

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. H.-B. Wuermeling

Restaktivität der menschlichen Serum-
Cholinesterase nach Vergiftung mit
Diisopropylfluorophosphat in geringer
Konzentration ($c = 1,57 \times 10^{-9} \text{ Mol/l}$), ihre
Korrelation zu Geschlecht, Blutgruppe, Alter

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Ralph Sucker
aus Nürnberg

1983



Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. H.-B. Wuermeling

Restaktivität der menschlichen Serum-
Cholinesterase nach Vergiftung mit
Diisopropylfluorophosphat in geringer
Konzentration ($c = 1,57 \times 10^{-9} \text{ Mol/l}$), ihre
Korrelation zu Geschlecht, Blutgruppe, Alter

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Ralph Sucker
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. V. Becker

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 19.09.1983

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung
 - 1.1. Zur Herkunft des DFP
 - 1.2. Physikalische und chemische Eigenschaften des DFP
 - 1.3. Pharmakologische Eigenschaften des DFP
 - 1.3.1. Der Cholinesterase-Hemmstoff DFP
 - 1.3.2. Die Eigenwirkung des DFP
 - 1.3.3. Klinische Symptome einer Intoxikation mit DFP
 - 1.3.4. Medikamentöse Verwendbarkeit von DFP
 - 1.4. Verbleib von DFP im Organismus
 - 1.4.1. Verteilung im Körper
 - 1.4.2. Abbau und Ausscheidung
 - 1.5. Die "DFP-ase"
2. Problemstellung
3. Experimentelle Untersuchung
 - 3.1. Gewinnung des Serums
 - 3.2. Beschreibung des angewandten Meßverfahrens
 - 3.3. Inkubationsbedingungen für DFP
 - 3.4. Messung der ChE-Aktivitäten
 - 3.5. Präzisionsmessung und Richtigkeitskontrolle
 - 3.6. Die DFP-Konzentration
4. Untersuchungsergebnisse
5. Auswertung der Ergebnisse
 - 5.1. Beurteilung der Daten des Gesamtkollektivs
 - 5.2. Abhängigkeit vom Geschlecht
 - 5.3. Abhängigkeit von der Blutgruppe
 - 5.4. Abhängigkeit vom Alter
6. Diskussion
7. Zusammenfassung
8. Histogramme und Diagramme
9. Literaturverzeichnis

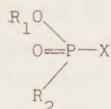
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
BCJ	Butyrylcholinjodid
ChE	Cholinesterase
DFP	Diisopropylfluorphosphat
DFP-ase	Diisopropylfluorphosphatase
DIP	Diisopropylphosphat

1. Einleitung

1.1. Zur Herkunft des DFP

Im Jahre 1932 entdeckten Lange und von Krüger bei Derivaten der Fluorphosphorsäure stark toxische Eigenschaften. Im Verlauf weiterer Untersuchungen kam es dann zur Entdeckung weiterer toxischer Phosphorverbindungen, deren Strukturformel prinzipiell immer die gleiche war, nämlich:



Man erhält die einzelnen Phosphatverbindungen durch Ersetzen von R_1 durch eine Alkylgruppe, R_2 durch ebenfalls eine Alkyl- oder eine Alkoxy- oder eine Diäthylaminogruppe. X kann für F^- , CN, eine Arylgruppe oder eine Pyrophosphatgruppe stehen.

Zu den Giften, denen oben angeführte Grundstruktur zu eigen ist, gehören neben DFP unter anderem E 600, E 605, Tabun, Soman und Sarin.

Das Diisopropylfluorophosphat wurde von zwei verschiedenen Forschungsgruppen unabhängig voneinander im gleichen Zeitraum synthetisiert, und zwar 1938 von G. Schrader und 1941 von Sounders in England.

Zu diesem Zeitpunkt verschob sich das ursprüngliche Ziel in der Erforschung von DFP und den anderen Organophosphaten von der Entwicklung von Pestiziden mehr zu der von Kampfgasen, was dazu führte, daß die wissenschaftlichen Veröffentlichungen zu diesem Themenkreis zurückgehalten wurden und erst nach der Ächtung der chemischen Kampfstoffe (1946) erschienen. Die nun wieder im Vordergrund stehende Erforschung der medizinischen Verwendbarkeit brachte eine eingeschränkte Verwendungsfähigkeit von DFP als Cholinesterasehemmstoff bei Myasthenia gravis. Ebenso wurde DFP bei Glaukom und

Strabismusdiagnose angewendet. Größere Bedeutung in der Medizin konnte DFP jedoch nicht erlangen, da die Gefahr der versehentlichen Intoxikation als zu groß erschien.

1.2. Physikalische und chemische Eigenschaften des DFP

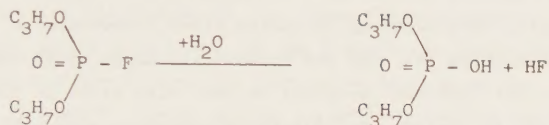
Das Diisopropylfluorophosphat ist ein reines Syntheseprodukt und liegt unter Normalbedingungen in flüssigem Zustand vor. Es zeichnet sich durch einen hohen Dampfdruck von 0,97mm bei 20°C aus. Die Löslichkeit in Wasser ist mit 1,5% bei 20°C sehr gering. In Alkohol, Aceton, Benzin und Öl ist DFP gut löslich. Seine Dichte beträgt 1,0622g/cm³, das Molgewicht beläuft sich auf 184,2g/Mol. Der Siedepunkt liegt bei 183°C, der Gefrierpunkt bei -82°C für 760mm Hg. In wässriger Lösung ist DFP sehr instabil, weil es hier zu einer spontan eintretenden Hydrolyse kommt. Seine Halbwertszeit beträgt dabei 16 Stunden, nach 5 Tagen ist die Fähigkeit zur ChE-Hemmung verlorengegangen. In Erdnußöl jedoch, dem bevorzugten medizinischen Lösungsmittel, bleibt DFP bis über 3 Monate wirksam (Leopold et. al. 1946, Quilliam 1947, Ramachandran 1971).

Gasförmiges DFP ist in niedrigen Konzentrationen unsichtbar und geruchlos. Für höhere Konzentrationen reicht die Beschreibung der Geruchsempfindungen von süß, pfefferminzartig über ätherisch bis ammoniakartig, scharf (Silver 1948).

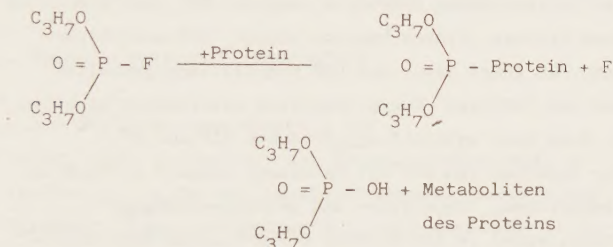
Es bestehen, neben der oben erwähnten Instabilität in wässrigen Lösungen und der sich hierbei ergebenden spontanen Hydrolyse, in vivo bei DFP noch zwei Reaktionsmöglichkeiten. Da ist zum einen die Bindung an Proteine, die in der Regel irreversibel abläuft. Desweiteren besteht noch die Möglichkeit einer enzymatischen Hydrolyse (Mounter et. al. 1954). Diese drei möglichen Reaktionen sind in der folgenden Abbildung wiedergegeben:

Abb.1. (siehe rechte Seite)

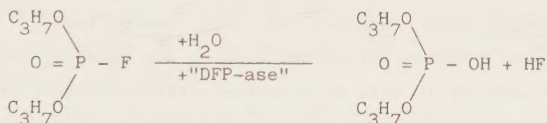
a) Spontane Hydrolyse:



b) Bindung an ein Protein (Cohen et. al. 1954)



c) Enzymatische Hydrolyse (Mounter et. al. 1954)



Die spontane Hydrolyse (a) spielt in vivo nur eine untergeordnete Rolle, da die Menge des ungebundenen DFP wegen seiner hohen Affinität zu Proteinen sehr gering ist. Nach einer Stunde läßt sich bereits kein freies DFP im Organismus mehr nachweisen (Latki et. al. 1961), weswegen die spontane Hydrolyse von den meisten Untersuchern vernachlässigt wird. Als Reaktionsprodukt ergibt sich das Diisopropylphosphat (DIP).

Bei der Bindung von DFP an Proteine handelt es sich im Grunde genommen um den gleichen Vorgang wie bei der weiter unten beschriebenen enzymatischen Hydrolyse. Der Unterschied



besteht jedoch darin, daß die Reaktion DFP/Protein in einen DIP-Protein-Komplex mündet, das Protein also irreversibel gebunden wird. Voraussetzung für solch einen irreversiblen DIP-Protein-Komplex ist, daß das Protein als Enzym nicht den Charakter einer "DFP-ase" besitzt; es darf also nicht in der Lage sein DFP zu spalten. Der DIP-Protein-Komplex wird schließlich auf dem Stoffwechselwege durch Metabolisierung des Proteins aufgelöst, wobei DIP frei wird.

Bei der enzymatischen Hydrolyse reagiert DFP zwar ebenfalls mit einem Protein, dieses besitzt jedoch "DFP-ase"-Eigenschaften. Das führt dazu, daß DFP hydrolytisch gespalten wird und das "DFP-ase"-Enzym letztlich unverändert erhalten bleibt. Auch hier entsteht als Produkte DIP und HF.

Bei der Reaktion von DFP mit Esterasen handelt es sich um stöchiometrische, temperatur- und pH-Wert-abhängige Reaktionen, wobei je ein Molekül DFP mit einem Aminosäurerest aus dem aktiven Zentrum des Enzyms reagiert. Dabei handelt es sich bei dem an der irreversiblen Reaktion beteiligten Aminosäurerest um einen Serinrest in nicht N-terminaler Stellung (Oosterbaan 1958, Jansz et. al. 1959, Wählby 1968). Der bei dieser Reaktion ablaufende Vorgang der Wandlung der reversibel-lockeren in eine irreversibel-starre DIP-Serinrest-Bindung wird als "Alterung" oder "ageing process" bezeichnet. Für die Enzyme mit "DFP-ase"-Eigenschaft findet eine solche "Alterung" nicht statt, und zwar nach Ansicht von Wooton aufgrund des Fehlens eines passenden Serinrests. Dieser müßte in der Nähe erster labiler Bindungen, die mit Tryptophan, Thyrosin und mit Histidin (Neurath 1965, Mounter et. al. 1957) eingegangen werden, gelegen sein.

Bei den irreversiblen Bindungen kann DFP solche nicht nur mit einem Serinrest im aktiven Zentrum, sondern auch außerhalb desselben am Enzym eingehen. Darüber hinaus kann die Reaktion der irreversiblen Bindung mit nahezu jedem Protein stattfinden.

Zusammenfassend kann gesagt werden:

DFP besitzt neben der Spontanhydrolyse zwei Möglichkeiten der Reaktion mit Proteinen. Zum einen die irreversible Bindung, wobei gleich ist, ob das Protein ein Enzym ist, oder nicht. Zum anderen die reversible Bindung an das Enzym "DFP-ase". Dieses besitzt im aktiven Zentrum keinen Serinrest an den das DFP in Form des DIP irreversibel gebunden werden könnte und geht somit unverändert aus der Reaktion hervor.

1.3. Pharmakologische Eigenschaften

1.3.1. Der Cholinesterasehemmstoff DFP

DFP wirkt stark toxisch auf den Säugetierorganismus, wobei die Toxizität in der Anticholinesterase-Eigenschaft des DFP begründet liegt, wie Mackworth (1942) erkannte. In der Folge ergaben Versuche von Hawkins et. al. (1947), daß die Pseudocholinesterase (E.C.3.1.1.8) eine noch höhere Affinität zu DFP besitzt, als die Acetylcholinesterase.

Die Bindung des DFP als DIP am Serinrest der Esterase hat die (irreversible) Blockade derselben zur Folge; es kann kein Acetylcholin mehr abgebaut werden.

Eine vollständige Hemmung der Acetylcholinesterase im Plasma muß nicht notwendigerweise zu klinischen Intoxikationserscheinungen führen. Bei einer Hemmung der AChE des Gewebes - vor allem des Gehirns - waren jedoch klinische Symptome manifestierbar, und zwar in ihrer Schwere abhängig vom Grad der AChE-Hemmung (Freedman et. al. 1949).

1.3.2. Die Eigenwirkung des DFP

Die meisten klinischen Symptome bei Applikation von DFP lassen sich als Folge einer Vergiftung mit Acetylcholin erklären, das wegen der Blockade der AChE nicht mehr abgebaut werden kann. Daneben zeigen sich aber auch stimulierende, nicotinähnliche Wirkungen, die aus einer Bindung des DFP an intracardinalen Synapsen resultieren. Auch kann eine Blockade

des Nervus vagus erfolgen (Verbecke 1949). Die Ausschaltung von Muskelkontraktionen findet ihre Begründung in einer reversiblen Bindung von DFP an die betreffenden Rezeptoren (Naess 1956). All diese Symptome sind direkt abhängig von der Höhe der Dosen, in denen DFP verabreicht wird.

1.3.3. Klinische Symptome einer Intoxikation mit DFP

Als Symptome einer DFP-Vergiftung werden beschrieben: Augenstechen, Schmerzen hinter dem Auge, Sehstörungen u.a. beim Fixieren und Dämmerungssehen. Beginn dieser Erscheinungen ist 15 Minuten bis 3,5 Stunden nach Vergiftung. Daneben kommt es zu vereinzeltm Auftreten von Muskelfaszikulationen, Miosis, Ptyalismus, gesteigerter Darmperistaltik, Diarrhoe und spontanem Urinabgang. Bei starker Intoxikation tritt nach krampfartigen Anfällen der Tod innerhalb weniger Stunden ein (Horton et. al. 1946).

Die Therapie bei DFP-Intoxikationen besteht in der Verabreichung von Atropin (ACh-Antagonist), von "Valium"^R zur Lösung von Spannungszuständen und von "Toxogonin"^R als Reaktivator. Darüber hinaus wird noch die Gabe von CTMB (Natr.-3-chloro-2,5,6-trimethylbenzoat) empfohlen.

1.3.4. Medikamentöse Verwendbarkeit von DFP

Da DFP die Eigenschaft hatte, bei "Myastenia gravis"-Patienten eine Stärkung der Muskelkraft hervorzurufen, wurde es in der Vergangenheit hier vielfach angewendet. Heutzutage wird in solchen Fällen fast ausschließlich Neostygmmin eingesetzt, da es nicht die ernsten Nebenwirkungen des DFP hervorruft und nur in der Dauer der Wirkung dem DFP unterlegen ist.

DFP in 0,1% öliger Lösung ist in der Lage, bei Einbringen in den Conjunktivalsack den Augeninnendruck bedeutend zu senken. Somit läßt sich DFP zur symptomatischen Behandlung beim Glaukom nutzen, vor allem dann, wenn Pilocarpin und Physostigmin versagen.

Weitere Anwendung findet DFP noch in der Therapie des Strabismus convergens, da es sich bei intermittierend auftretenden Sehstörungen durch hypermetropiebedingte Akkommodationsstörungen bewährt hat. Sein Einsatz bedarf jedoch wegen der erheblichen Nebenwirkungen einer strenggefaßten Indikation (Gellmann 1963/64).

DFP findet außerdem noch als radioaktiv markiertes DFP³² in der Erforschung DFP-sensibler Enzyme und Blutkörperchen Verwendung, da es mit diesen -wie erwähnt- irreversible Bindungen eingeht.

1.4. Verbleib von DFP im Organismus

1.4.1. Verteilung im Körper

Im Jahre 1950 führten Jandorf und Mc Namara mit DFP Verteilungsstudien durch, indem sie nach Injektion (i.v.) von DFP³² in einer Dosis von 0,5mg/kg Körpergewicht bei Meerschweinchen als Probanden den radioaktiven Gehalt von Plasma, Erythrozyten, Lunge, Leber, Niere, Muskel und Hirn bestimmten. Dabei fanden sie, daß DFP von allen Geweben aufgenommen wird, wengleich auch in unterschiedlicher Konzentration. So war der DFP-Gehalt von Leber, Lunge, Niere höher als im Plasma; der der übrigen Gewebe lag dagegen niedriger. Ebenso war festzustellen, daß nach 24 Stunden alles DFP an Proteine gebunden war.

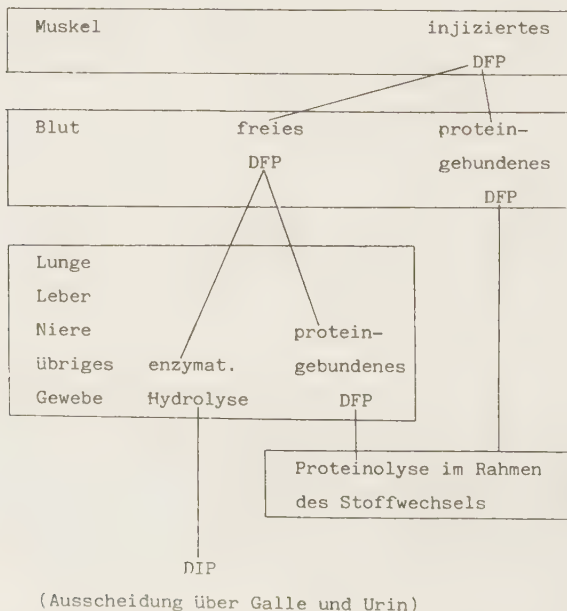
In Versuchen, die Cohen und Warringa (1954) mit radioaktivem DFP³² unternahmen, indem sie es Probanden in Dosen zwischen 0,25 und 1,99mg injizierten, zeigte sich, daß die Radioaktivität (welche der DFP-Konzentration entspricht) nach 90 Minuten ein Maximum erreichte, dann jedoch rasch abnahm. Nach 27 Tagen ließ sich dann nur noch eine geringe Menge radioaktiv-markierten Phosphors nachweisen, welcher ohne Ausnahme als DIP³² an Plasmaproteine und Erythrozyten gebunden war. Daraus ergab sich: Alles DFP, welches nicht bereits im Blut an Blutkörperchen und Plasmaproteine gebunden wird, wird wegen seiner

hohen Affinität zu Proteinen rasch im Gewebe absorbiert. In den Geweben wird DFP nun zum einen an Proteine gebunden, zum anderen besteht die Möglichkeit, daß es einer enzymatischen Hydrolyse durch eine "DFP-ase" unterworfen wird.

Diese Ergebnisse fanden weitestgehende Bestätigung durch Untersuchungen von Hansen et. al. (1968), wobei sich in Versuchen mit Meerschweinchen und Katzen ergab, daß nach einer Minute bereits 85% des injizierten DFP in Form von irreversibel Plasmaprotein-gebundenem DIP vorlag.

Die Bindung von DFP an Erythrozyten und Gewebe hingegen erwies sich als lockerer, da durch "Auswaschen" mit Pufferlösungen der Gehalt an im Interstitium befindlichem oder lose in eine Zellmembran eingelagertem DFP wieder verringert werden konnte (Schuh et. al. 1970). Auch war der Aufnahme-prozess des DFP ins Gewebe erst nach 4 Stunden abgeschlossen.

Abb.2. Die Verteilung des DFP im menschlichen Organismus nach intramuskulärer Verabreichung (Cohen et. al. 1954)



1.4.2. Abbau und Ausscheidung

Wie Cohen und Warringa 1954 zeigten, wird DIP, welches durch enzymatische Hydrolyse entstand, sofort und ohne gespeichert zu werden über Urin und Faeces ausgeschieden. Den gleichen Ausscheidungsweg nimmt das irreversibel-proteingebundene DIP, jedoch erst dann, wenn das betreffende Protein verstoffwechselt wird (siehe obiges Schema). Es fand sich auch, daß nach Applikation von DFP dieses in sehr geringen Mengen unverändert auf dem Harnwege ausgeschieden, oder auch über die Lunge ausgeatmet wird.

1.5. Die "DFP-ase"

Als "DFP-ase" werden Proteine mit Enzymcharakter bezeichnet, welche in der Lage sind, DFP enzymatisch zu hydrolysieren und unverändert aus dieser Reaktion hervorzugehen. Nach Wooton et. al. (1960) liegt der Grund für diese Fähigkeit zur reversiblen DFP-Bindung in einer Besonderheit seiner Struktur, nämlich im Fehlen eines Serinrestes in der Nähe des Histidins. Man gab einem so gearteten Enzym, für das bis jetzt kein natürliches Substrat bekannt ist, die Bezeichnung Diisopropylfluorophosphatase "DFP-ase" (E.C.3.8.2.1).

Bisher konnte nachgewiesen werden, daß DFP bei verschiedenen Tieren, wie z.B. Kaninchen (Mazur, 1946) und Hunden (Koelle et al. 1946) auf enzymatischem Weg hydrolysiert wird.

Gefunden werden konnte eine "DFP-ase" bisher in fast allen lebenden Organismen, neben Säugetieren auch bei Viren (Neurath, 1965) und Bakterien (Mounter et al. 1955, Wählby et al. 1966/1968).

Ein hochgradig gereinigtes Enzym mit "DFP-ase"-Eigenschaften ließ sich erstmals durch Mounter (1953 b) aus Schweinenieren-Homogenat herstellen. Ihm gelang auch der Nachweis, daß die Hydrolyse fast aller organischer Phosphorsäureester durch "DFP-ase" aktiviert werden kann.

Da die Enzympräparationen jeweils aus Schweinenieren stammen, dürfen die Ergebnisse dieser Untersuchungen nicht ohne weiteres auf Enzyme mit "DFP-ase"-Eigenschaft, welche anderer Herkunft sind, übertragen werden. So wird z.B. Paraoxon von Schweinenieren-"DFP-ase" nicht hydrolysiert, wohl aber von der aus Kaninchenserum. Es konnte auch festgestellt werden, daß bestimmte Metallionen und Aminosäuren hemmende oder aktivierende Wirkung auf die "DFP-ase" haben (Mounter et al. 1953 a, 1953 b, 1954).

Die jeweils größte "DFP-ase"-Menge findet man bei Säugetieren in der Leber. Aber auch in den meisten anderen Organen und Geweben ist eine "DFP-ase" vorhanden: Herz, Lunge, Gehirn, Milz, Muskel, Knochenmark, Gonaden, Pankreas und Thymus (Mounter et al. 1955 b).

Was die Existenz einer "DFP-ase" im menschlichen Serum anbetrifft, so gibt es darüber eine Untersuchung von Mazur (1946); er konnte eine menschliche Serum-"DFP-ase" mittels einer Warburg-Apparatur (siehe unten) messtechnisch ermitteln. Die Konzentration der so festgestellten "DFP-ase" betrug allerdings nur 10% der für das Kaninchenserum ermittelten. Der endgültige Beweis für die Existenz einer "DFP-ase" im menschlichen Serum und die Wirkung auf den dort stattfindenden DFP-Abbau darf allerdings danach noch nicht als erbracht angesehen werden.

2. Problemstellung

DFP wurde in der Vergangenheit schon vielfach zum Gegenstand von Untersuchungen gewählt; einige Punkte betreffs seiner Wirkung im menschlichen Organismus bedürfen jedoch noch der näheren Betrachtung. So konnte noch nicht mit letzter Sicherheit die Frage geklärt werden, ob es sich beim DFP-Abbau um eine enzymatische Hydrolyse oder um einen Titrationsvorgang handelt. Auch erscheint der Abbau des DFP im menschlichen Serum bezüglich solcher Faktoren wie 'Alter', 'Geschlecht' und 'Blutgruppe' als noch nicht hinreichend erforscht. Es ist z.B. durchaus denkbar, daß der DFP-Abbau beim älteren Menschen einen anderen Verlauf nimmt, als beim jüngeren, oder von Blutgruppe zu Blutgruppe Unterschiede auftreten.

In früheren Untersuchungen (von Arbeitsgruppen unter Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher am Institut für Gerichtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg) wurden die menschliche Serum-ChE mit DFP vergiftet und die Werte der Aktivität derselben vor Vergiftung und nach der Vergiftung ermittelt. Bei einigen dieser Untersuchungen erwies sich jedoch die Konzentration des Giftes als zu stark. Dies wirkte sich dahingehend aus, daß die Beurteilbarkeit der Restaktivität (= Aktivität der Serum-ChE bestimmte Zeit nach ihrer Vergiftung) darunter litt, daß die Unterschiede in den Ergebnissen kaum noch meßbar waren.

Deshalb wird bei meiner Untersuchung eine von den vorher benutzten DFP-Konzentrationen abweichende, wesentlich geringere Konzentration verwendet.

Es ist nun meine Aufgabe, die bei dieser geringen Giftkonzentration gewonnenen Werte dahingehend zu untersuchen, ob die Restaktivität der menschlichen Serumcholinesterase (und somit der Abbau von DFP im menschlichen Organismus)

abhängig ist vom Alter, vom Geschlecht, oder von der Blutgruppe des Menschen; wobei natürlich die Möglichkeit besteht, daß keiner dieser genannten Faktoren auf das Abbaugeschehen Einfluß nimmt.

3. Experimentelle Untersuchung

Gegenstand der experimentellen Untersuchung war in diesem Falle die Ermittlung der Ausgangsaktivität der unvergifteten Serumcholinesterase ChE (E.C. 3.1.1.8), sowie die Messung der Restaktivität des vergifteten Enzyms mittels der Anti-ChE-Technik nach Geldmacher v. Mallinckrodt et. al. (1969).

3.1. Gewinnung des Serums

Als Probanden standen 80 gesunde, bis auf wenige Ausnahmen nicht verwandte Personen unterschiedlicher Blutgruppen im Alter von 15 bis 70 Jahren zur Verfügung. Sie waren zur Hälfte männlichen und weiblichen Geschlechts und bestanden aus Gruppen von Blutspendern der Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg und aus eigenen Bekannten. Ihnen wurden 10ml Venen-blut entnommen, die im Anschluß an die Entnahme bei 1600^U/min 10 Minuten lang zentrifugiert wurden. Eine Hämolyse konnte dabei nicht festgestellt werden. Nach dem Zentrifugieren wurde die Blutprobe bei 5°C im Kühlschrank aufbewahrt. Die Entnahme des beim Versuch genutzten Serumüberstandes erfolgte spätestens nach 3 Tagen.

3.2. Beschreibung des angewandten Messverfahrens

Zur Messung der benötigten Werte wurde gemäß der "Anti-ChE-Technik" nach Geldmacher v. Mallinckrodt et. al. (1969) verfahren. So wurde von demselben Serum sowohl die Aktivität der unvergifteten Serumcholinesterase (= Ausgangsaktivität) als auch diejenige des vergifteten Enzyms (= Restaktivität) ermittelt. Letztere wurde, -wie meist zu Untersuchungszwecken-, in % der Ausgangsaktivität ausgedrückt.

Die Serum-Cholinesteraseaktivität wurde in einer Warburg-Apparatur Typ V 85 der Firma Braun, Melsungen, nach der

manometrischen Methode von Ammon (1934) in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958) bestimmt.

Zur Veranschaulichung ist in Abb. 3 die Warburg-Apparatur schematisch wiedergegeben. Die gesamte Apparatur besteht aus 14 derartigen Einzelementen.

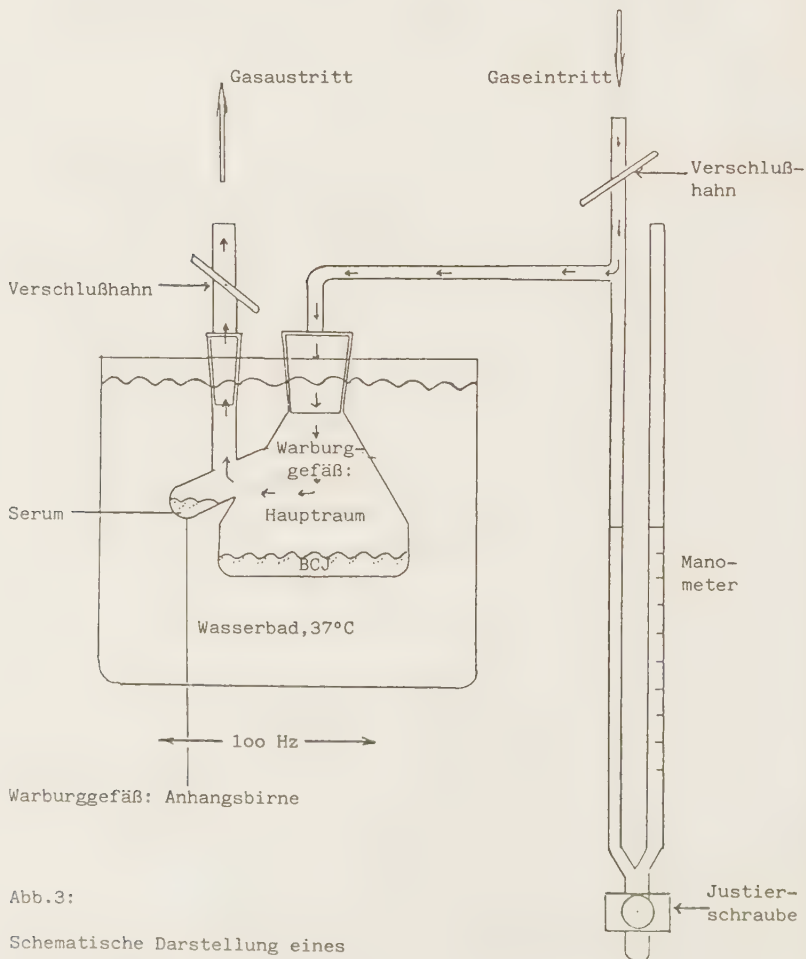


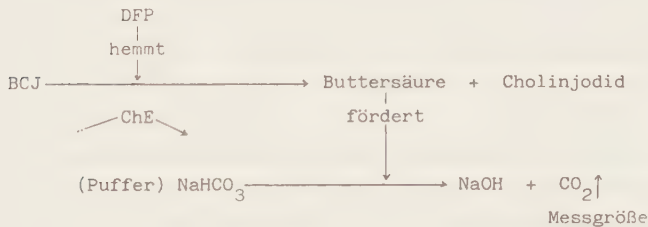
Abb.3:

Schematische Darstellung eines
Einzelementes der Warburgapparatur

Als Substrat für die Serum-ChE diente Butyrylcholinjodid (BCJ). Dieses BCJ ist ein spezifisches Substrat, das zwar rasch von der nicht zellständigen Pseudocholinesterase des Serums (E.C.3.1.1.8) abgebaut wird, nicht aber von der zellständigen Acetylcholinesterase (E.C.3.1.1.7) der Erythrocyten. Dadurch werden Aktivitäten anderer Enzyme, speziell der AChE, ausgeschlossen und spezifische enzymatische Tests im Serum sind möglich. Das hat den Vorteil, daß selbst ein hämolytisches Serum gemessen werden kann, da das BCJ nur mit der ChE des Serums, nicht jedoch mit der AChE der Erythrocyten reagiert.

Als Messgröße wurde für den Versuch freiwerdendes CO_2 herangezogen, das in der Warburg-Apparatur am Manometer ablesbar war. Dieses CO_2 wird bei der Reaktion des BCJ mit der Cholinesterase frei; der genaue Reaktionsweg ist in Abb.4 wiedergegeben.

Abb.4: Reaktion von BCJ mit der ChE und die DFP-Wirkung



3.3. Inkubationsbedingungen für DFP

Zur Vergiftung des Enzyms wurden 1 μ l DFP Stammlösung auf 110ml Aqua bidest. gegeben und mechanisch 10 Minuten lang geschüttelt. 1 μ l dieser Lösung wurden dann in 30ml Verdünnungslösung gegeben und ebenfalls 10 min lang auf mechanischem Wege geschüttelt. Die Verdünnungslösung bestand aus 10 Teilen 0,9%iger NaCl-Lösung und 3 Teilen

1,2%iger NaHCO_3 -Lösung. Zur Vergiftung wurden 0,15ml Serum mit 1,35ml DFP-haltiger Verdünnungslösung im Reagenzglas versetzt. Die DFP-Konzentration dieses Ansatzes betrug $1,57 \times 10^{-9} \text{ Mol/l}$ ($c = 1,57 \times 10^{-9}$ molar).

Bei den unvergifteten Ansätzen wurde entsprechend verfahren; 0,15ml Serum wurden mit 1,35ml unvergifteter Verdünnungslösung versetzt. Von diesen Inkubationsansätzen wurden jeweils 0,5ml in die entsprechenden Anhangsbirnen der Warburggefäße gefüllt. In den Hauptraum der einzelnen Glaskölbchen wurden 1,5ml einer 0,546%igen wässrigen Butyrylcholinjodidlösung (BCJ) gegeben.

Die dieserart gefüllten Gefäße wurden an die Manometer der Warburgapparatur angeschlossen, in ein Wasserbad von 37°C gebracht und kontinuierlich mechanisch geschüttelt.

Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten wurden die Ansätze in der Warburgapparatur unter fortgesetzter Schüttelbewegung einem Gasgemisch bestehend aus 5% CO_2 und 95% N_2 30 Minuten lang ausgesetzt. Danach wurden die Gefäßhähne geschlossen und die Begasungsschläuche entfernt. Die Gesamtinkubationszeit betrug 60 Minuten, der pH-Wert lag bei 7,7.

3.4. Messung der ChE-Aktivitäten

Nach Abschluß der Inkubation wurden die verdünnten Seren aus der Anhangsbirne in den Hauptraum des jeweiligen Glaskölbchens gekippt und einzeln durch Schüttelbewegungen genau 15 Sekunden lang gemischt. Der pH-Wert lag nun bei 7,2. Bei den verwendeten 14 Warburggefäßen ergab sich somit eine Mischzeit von 3,5 Minuten. Jetzt wurden die Manometerstände auf den so genau wie möglich justierten Manometern abgelesen (Vordifferenz) und die Manometerhähne geschlossen.

In der Folge wurden nun die einzelnen Manometerstände nach 15 und nach 30 Minuten abgelesen. Hierbei blieb die Schüttelfrequenz von 100 Hz bis auf die kurzen Unterbrechungen während des Ablesens erhalten.

Um exaktere Ergebnisse zu erzielen, wurden für jedes Serum Doppelbestimmungen durchgeführt. Es wurden also pro Serum je 2 vergiftete und 2 unvergiftete Ansätze gemessen.

Zur Berücksichtigung der Eigenhydrolyse des Substrats wurden bei jedem Versuchslauf zwei Leerwerte mitgeführt.

Diese Leerwerte enthielten im Gefäßhauptsraum ebenfalls 1,5ml BCJ-Lösung, in der Anhangsbirne befand sich an Stelle des Serums jedoch lediglich unvergiftete Verdünnungslösung.

Von den nach 30 min. abgelesenen Werten wurden schließlich die entsprechenden Vordifferenzen subtrahiert. Diese Werte wurden dann mit den für jedes Gefäß charakteristischen Gefäßkonstanten multipliziert. Diese Konstanten errechnen sich nach der in Abb.5 wiedergegebenen Formel.

Abb.5: Formel der Gefäßkonstanten (nach Süllmann, 1964)

$$K = \frac{V_{ges} \times 880 + 1080}{10^4}$$

Hierbei gilt:

V_{ges} = Volumen des Gefäßes + Volumen des Manometers - 2ml

Schließlich wurde das Arithmetische Mittel aus den zueinandergehörigen Wertepaaren der Doppelansätze gebildet und hiervon der Mittelwert des Leerwertpaares subtrahiert. Daraus ergaben sich für jeden Probanden jeweils ein Wert für das unvergiftete Serum (= Ausgangsaktivität) und ein Wert für das vergiftete Serum (= Restaktivität). Die Angabe dieser Werte erfolgte in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min.}$ Der Wert der Restaktivität in % der Ausgangsaktivität wurde aus diesen Ergebnissen errechnet, und zwar durch Division der Restaktivität durch die dazugehörige Ausgangsaktivität und anschließende Multiplikation mit 100.

3.5. Präzisionsmessung und Richtigkeitskontrolle

Die vielen möglichen Fehlerquellen bei der Versuchsdurchführung, vor allem beim Pipettieren der sehr kleinen Giftmengen, machten eine Überprüfung der Versuchsgenauigkeit zwingend erforderlich. So wurden zur Ermittlung der Präzision 12 Messungen mit demselben Serum durchgeführt und jeweils die Restaktivität in % ermittelt. Aus den 12 Restaktivitäten ergab sich eine Standardabweichung von $s = 1,8593$. Bei einem Mittelwert von $x = 82,1125$ Restaktivität in % führt das zu einem Variationskoeffizienten von $v = 0,0226$ oder in Prozent ausgedrückt von $V = 2,26\%$. Da bei klinisch-chemischen Untersuchungen mit Enzymen, V kleiner als 10% sein muß, kann man die erzielten Ergebnisse als präzise ansehen.

Zur Richtigkeitskontrolle wurden Messergebnisse früherer Untersuchungen unter Leitung von Geldmacher von Mallinckrodt herangezogen. Bei den betreffenden Kontrollpersonen stimmten die früher ermittelten Werte mit den neuen selbst erzielten überein. Darüberhinaus wurde nach halber Versuchsreihe ein Kontrollversuch mit einem zu Anfang mehrfach getesteten Serum durchgeführt; auch hier ergaben sich keine Abweichungen von früheren Werten.

3.6. Die DFP-Konzentration

Um die erwünscht niedrige DFP-Konzentration zu erreichen wurde der DFP-Lösung, die pro Gramm $5,428 \times 10^{-3}$ Mol enthielt, 1 μ l entnommen und in 110ml Aqua bidest gegeben, was zu einer vorläufigen Konzentration von $5,766 \times 10^{-6}$ Mol DFP führte. 1 μ l dieser ersten Verdünnung wurde nun in weitere 30ml Pufferlösung gegeben. Diese Lösung enthielt jetzt $5,242 \times 10^{-11}$ Mol DFP. Nun wurden von dieser zweiten Verdünnung 1,35ml in 0,15ml Serum pipettiert. Der Inkubationsansatz enthielt somit $2,358 \times 10^{-12}$ Mol DFP, was einer DFP-Konzentration von $c = 1,57 \times 10^{-9}$ Mol/l entspricht.

4. Untersuchungsergebnisse

In untenstehender Tabelle sind die Ergebnisse der oben beschriebenen Versuche wiedergegeben. Hierbei wurden die Werte der einzelnen Probanden in der Reihenfolge steigender Restaktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivitäten angeordnet, was sich für die Beurteilung des "Vergiftungsgrades" des betreffenden Serums als vorteilhaft erweisen wird. Die dabei angewendeten Abkürzungen haben folgende Bedeutung:

AA = Ausgangsaktivität der Serum-ChE in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$
 RA' = Restaktivität der Serum-ChE in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$
 S = Senkung (= AA-RA) der Serum-ChE in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$
 RA% = Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität
 m = männlich
 w = weiblich
 BG = Blutgruppe

Die Altersangabe erfolgt in vollendeten Lebensjahren zur Zeit der Messung.

Das Kollektiv umfaßt 80 Probanden.

Tabelle 1: Aktivitäten der Serumcholinesterase vor und nach Vergiftung mit DFP in geringer Konzentration ($c = 1,57 \times 10^{-9} \text{ mol}$)

Proband	Alter	BG	Geschl.	AA in $\mu\text{l CO}_2 / 30 \text{ min}$	RA	S	RA%
L., Ingolf	26	B	m	224,31	89,23	135,08	39,78
R., Marianne	25	O	w	218,82	101,88	116,94	46,56
K., Marianne	31	O	w	108,43	52,20	56,23	48,14
B., Elke	18	A	w	238,72	119,21	119,51	49,94
S., Ludwig		AB	m	133,63	69,74	63,89	56,77
R., Kurt	30	O	m	225,86	128,23	97,63	56,77
S., Roland	40	O	m	108,07	62,28	45,79	57,63

Fortsetzung von Tabelle 1

Proband	Alter	BG	Geschl.	AA in μ l	RA CO ₂ / 30 min	S	RA%
T., Wille	51	O	m	189,76	139,94	49,82	73,75
K., Helene	36	O	w	222,97	164,80	58,17	73,91
G., Dieter	23	O	m	253,33	187,55	65,78	74,03
J., Teresa	23		w	144,95	107,32	37,63	74,04
B., Brigitte	35	A	w	206,45	154,37	52,08	74,77
P., Gerlinde	40	B	w	202,15	151,93	50,22	75,16
W., Karl-F.	28	A	m	189,88	142,76	47,12	75,18
F., Gunhild	26	B	w	156,84	118,51	38,33	75,56
H., Beate	20	O	w	167,12	127,09	40,03	76,05
R., Marg.	49	A	w	215,92	164,27	51,65	76,08
S., Hans		O	m	239,10	181,89	57,21	76,08
F., Gabriele			w	175,88	133,82	42,06	76,09
S., Josef	44	A	m	202,23	153,94	48,29	76,12
B., Ursula			w	199,36	153,76	45,60	77,13
S., Marianne		B	w	164,52	127,17	37,35	77,30
B., Iris	15	A	w	179,45	138,91	40,54	77,41
T., Andreas	19	B	m	220,18	172,57	47,63	78,38
H., Ingrid	37	O	w	158,99	124,66	34,33	78,41
R., Hannelore	29	A	w	182,19	143,09	39,10	78,54
W., Irmgard	23	A	w	173,25	136,53	36,72	78,81
B., Angelika	19	O	w	184,58	145,75	38,83	78,96
K., Heasook	29	A	w	157,15	124,48	32,76	79,21
D., Roland	22	B	m	205,67	164,16	41,51	79,82
T., Siegfried	23	AB	m	198,90	160,64	38,26	80,76
S., Berta	53	A	w	195,13	158,23	36,90	81,09
J., Hannelore	44		w	172,73	140,32	32,41	81,24
S., R.	29	A	m	212,54	173,78	38,76	81,76
H., Karl	38	O	m	249,06	204,74	44,32	82,21
F., Hannelore	31	A	w	188,66	156,25	32,41	82,82
T., H.K.	33	A	m	245,75	208,48	37,27	84,83
L., H.		O	m	270,88	230,77	40,11	85,19

Fortsetzung von Tabelle 1

Proband	Alter	BG	Geschl.	AA in $\mu\text{l CO}_2$	RA / 30 min	S	RA%
K., Hedwig	24		w	143,81	84,46	59,35	58,73
H., Ulrich	23	A	m	186,44	110,40	76,04	59,21
W., Brigitte	20	O	w	207,73	124,12	83,61	59,75
R., Josef	31	A	m	258,82	155,50	103,32	60,08
F., Ortwin	40	O	m	212,91	131,16	81,75	61,60
R., Eva-Maria	23		w	118,83	73,48	45,43	61,84
H., Barbara		A	w	114,81	73,10	41,71	63,67
B., W.	39	A	w	151,69	98,79	52,90	65,13
S., Wiete	33	O	w	168,22	110,10	58,12	65,45
S., Manfred	28	O	m	207,91	136,51	71,40	65,66
K., Michael	23	A	m	180,00	118,43	61,57	65,79
P., H.	52	A	w	197,58	132,02	65,56	66,82
R., Gerd		A	m	256,34	171,64	84,70	66,96
S., Charlotte	50		w	181,40	122,89	58,51	67,75
L., Helmut	23	A	m	194,86	132,16	62,70	67,82
W., Michael	35	A	m	201,62	137,30	64,32	68,10
M.			m	189,23	128,90	61,23	68,12
K., Rudolf	38	A	m	204,23	139,37	64,86	68,24
G., Christin	40		w	182,65	126,59	56,06	69,31
H., Walter	33	A	m	197,57	137,02	60,55	69,35
E., Jörg	22	B	m	159,86	111,37	48,49	69,67
D., Elisabeth			w	177,18	123,49	53,69	69,70
H., Elisabeth	30		w	148,87	103,90	44,97	69,79
G., Christine	40		w	169,94	119,88	50,06	70,54
S., Hans	51	A	m	247,99	175,38	72,61	70,72
V., Susanne	22		w	216,54	154,47	62,07	71,34
L., Ferdl	25	A	m	147,96	106,21	41,75	71,78
L., Lutz	25	O	m	192,05	137,94	54,11	71,83
H., Oskar		B	m	206,50	148,46	58,04	71,89
H., Gabriele	23	O	w	176,63	127,06	49,57	71,94
F., Torsten	18	B	m	160,52	116,11	44,41	72,33

Fortsetzung von Tabelle 1

Proband	Alter	BG	Geschl.	AA in μ l	RA CO ₂ / 30 min	S	RA%
D., Heike		A	w	191,11	163,65	27,46	85,63
J., Thomas	23	A	m	243,84	210,57	33,27	86,36
D., Adolf	56	O	m	274,64	237,84	37,16	86,60
O., A.		O	w	248,08	216,70	31,38	87,35
S., E.		A	m	226,30	198,70	27,60	87,80
J., Rosa	70		w	258,37	230,83	27,54	89,34
S., Ralph	25	O	m	250,19	224,63	25,56	89,78
R., Richard	43	A	m	237,63	216,84	20,79	91,25
S., Friedrich		AB	m	200,99	183,52	17,47	91,61
T., Werner	45	B	m	176,78	161,94	14,84	91,61
J., Petra	15		w	242,28	222,20	20,08	91,71

5. Auswertung der Ergebnisse

Um eine exakte Berechenbarkeit zu gewährleisten, wurden die erzielten Werte auf Lochkarten übertragen. Die rechnerische und statistische Auswertung dieser Daten erfolgte an der Rechenanlage "TR440" des regionalen Rechenzentrums Erlangen unter Zuhilfenahme des Programmsystems STATSYS (Victor et. al. 1973). Das Resultat dieser Auswertung ist im weiteren Verlauf dieser Arbeit wiedergegeben.

5.1. Beurteilung der Daten des Gesamtkollektivs

Zuerst soll hier eine kurze Auswertung der Daten aller Probanden vorgenommen werden, da eine Kenntnis allgemeiner Zusammenhänge und Gesetzmäßigkeiten für Serum-Cholinesterase und DFP-Abbau bei der Beurteilung spezifischer Abhängigkeiten im anschließenden Teil der Arbeit unerlässlich sein wird.

Betrachtet man als erstes die Aktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase vor der Vergiftung (also die Ausgangsaktivität), so zeigt sich, daß diese von Proband zu Proband verschieden ist. Hierbei ergeben sich Schwankungen der AA-Werte, denenzufolge der Mindestwert nur 40% des erzielten AA-Maximalwertes ausmacht (siehe Tabelle 1 und Histogramm 1 (Seite 49)).

Tabelle 1: Grenz- und Durchschnittswerte von AA, RA, S und RA% für das Gesamtkollektiv

	Mittelwert	Standardabw.	Minimalwert	Maximalwert	Konfidenzber. (P= 0,05)
RA	144,39	40,63	52,20	237,80	$\pm$ 9,0
S	51,79	22,22	14,80	135,10	$\pm$ 4,9
RA%	72,91	10,96	39,78	91,71	$\pm$ 2,4
AA	196,17	38,11	108,10	274,60	$\pm$ 8,4

Ebenso verhält es sich mit den Werten der Restaktivität; auch hier gibt es gravierende Unterschiede zwischen den einzelnen Werten (Tabelle 1) und keinen Hinweis auf eine, auf einen Wert konzentrierte Verteilung (Histogramm 1). Das aber bedeutet nicht mehr, als daß unterschiedliche Probanden unterschiedliche Ausgangs- und unterschiedliche Restaktivitäten besitzen.

Untersucht man nun die Beziehungen der Ausgangs- zur Restaktivität und umgekehrt, so geschieht dies am Besten durch Ermittlung des Korrelationskoeffizienten 'r'. Hier gilt bekanntlich: Je größer die Annäherung von 'r' an 1, desto größer die Korrelation. In diesem Falle, also für das Verhältnis Ausgangs-/Restaktivität, beträgt der

$$\text{Korrelationskoeffizient } r_{AA/RA} = 0,8426$$

Das heißt, daß eine enge Beziehung zwischen der Höhe der Ausgangsaktivität der Serum-ChE und der Höhe der Restaktivität besteht. Probanden mit hoher Ausgangsaktivität haben also auch eine hohe Restaktivität; Probanden mit niedrigen AA-Werten im Verhältnis niedrigere Restaktivitäten.

Inwiefern das einzelne Serum durch DFP vergiftet werden kann, läßt sich aus Obigem nicht ablesen. Für die Wirksamkeit der Serum-ChE trotz Vergiftung steht der Wert der Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität - und zwar dergestalt, daß je geringer der RA%-Wert ist, desto größer ist der Vergiftungsgrad. Ein niedriger RA%-Wert steht also für eine hohe DFP-Vergiftungsanfälligkeit des einzelnen Serums.

Für den theoretischen Fall, daß nach gleicher Zeit und gleicher DFP-Konzentration bei den verschiedenen Seren der Vergiftungsgrad gleich sei, wäre Bedingung, daß RA% für jeden Probanden den gleichen Wert ergeben müßte. Träfe dies zu, würde es dafür sprechen, daß ein Enzym "DFP-ase" mit stets gleichem Wirkungsgrad bei den verschiedenen Seren und Probanden für den DFP-Abbau sorgt. Alternativ dazu besteht die Möglichkeit, daß RA% für die einzelnen Seren verschiedene Werte annimmt, was - wie wir aus Tabelle 1 und Histogramm ersehen können - letztlich auch der Fall ist.

Nun gilt es zu untersuchen, ob das Ausmaß der Vergiftung, d.h. der Wert des Rückgangs der Serumcholinesterase-Aktivität gemessen in absoluten Zahlen, von Proband zu Proband konstant bleibt, oder ob sich differierende Werte ergeben. Der Parameter hierfür ist die Senkung S; das ist der Wert, den man erhält, wenn man den RA-Wert vom zugehörigen Wert der Ausgangsaktivität abzieht. Sollte sich dieser Wert als konstant erweisen, so spräche das für eine Verstoffwechselung des DFP im Serum, in Form einer reinen Titration, d.h. durch unspezifische Bindung des Giftes an Eiweißkörper des Serums. Wie sich jedoch aus Tabelle 1 und Histogramm 1 ergibt, unterscheiden sich die Werte von Proband zu Proband ziemlich deutlich. Dies läßt den Schluß zu, daß der DFP-Abbau zumindest nicht allein auf Titration beruht. Vielmehr liegt die Vermutung nahe, daß verschiedene Enzyme - oder aber ein Enzym "DFP-ase" mit für jedes Serum unterschiedlicher Intensität - beim menschlichen Serum in den DFP-Abbau eingreifen. Ansonsten dürfte es - bei korrekter Versuchsdurchführung - kaum zu solch unterschiedlichen Werten für RA% und Senkung kommen.

Um über Abhängigkeiten und Zusammenhänge einzelner oben genannter Größen unter- und voneinander ein klares Bild zu bekommen, ist es nützlich, für diese die entsprechenden Korrelationskoeffizienten zu ermitteln. In Tabelle 2 sind diese wiedergegeben.

Tabelle 2: Korrelationskoeffizienten von AA, RA, S und RA% für das Gesamtkollektiv

	AA	RA	S	RA%
AA	<u>1,0000</u>			
RA	<u>0,8426</u>	<u>1,0000</u>		
S	0,1740	-0,3836	<u>1,0000</u>	
RA%	0,3411	<u>0,7818</u>	<u>-0,8446</u>	<u>1,0000</u>

(= signifikante Korrelation)

Wie im Vorangegangenen schon ausgeführt wurde, bedeutet die deutliche Korrelation zwischen Ausgangs- und Restaktivität, daß je größer die Aktivität der unvergifteten Serum-ChE eines Probanden ist, desto größer ist auch die nach Vergiftung mit DFP verbliebene Aktivität.

Daß zwischen der Ausgangsaktivität und der Senkung keine signifikante Korrelation besteht, heißt, daß aus der Höhe der Ausgangsaktivität nicht auf das Ausmaß des Aktivitätsrückganges - also die Senkung - geschlossen werden kann.

Für das Verhältnis S zu RA% drückt der hohe Korrelationskoeffizient aus, daß die Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität umso kleiner ist, je größer die Senkung, also der Rückgang der Serumcholinesterase-Aktivität, ist.

Der hohe Korrelationskoeffizient bei RA zu RA% bedeutet, daß eine große Restaktivität gemessen in absoluten Zahlen sich auch in nahezu allen Fällen als hoher Prozentwert bezogen auf die Ausgangsaktivität darstellen läßt.

Die Korrelationskoeffizienten von RA/S und AA/RA% zeigen eine nur schwache Korrelation an, woraus sich entnehmen läßt, daß zwischen den Werten der Restaktivität und denen der Senkung kaum Zusammenhänge existieren; ebenso läßt sich aus der Höhe der Ausgangsaktivität keine Aussage bezüglich des Vergiftungsgrades treffen.

Wie obigen Untersuchungsergebnissen und Ausführungen zu entnehmen ist, ergaben sich für jeden Probanden unterschiedliche Werte hinsichtlich der Reaktion seiner Serum-ChE auf eine DFP-Vergiftung. Inwieweit diese Wertunterschiede und -verteilungen aber auf Umständen beruhen, die mit der Person des einzelnen Probanden zu tun haben, ist diesen Untersuchungen nicht zu entnehmen. Die Probanden unterscheiden sich aber untereinander in vielerlei Hinsicht; und diese Unterschiede können durchaus Einfluß nehmen auf die Art und Weise, wie DFP im menschlichen Organismus wirkt und verstoffwechselt wird. Zu denken ist hier vor allem an solche probandenbezogenen Faktoren wie Geschlecht, Blutgruppe und Alter. So spricht von vorneherein

nichts dagegen, daß eine Vergiftung des Serums mit DFP bei Frauen einen – was das Ausmaß anbetrifft – anderen Verlauf nimmt als bei Männern, oder daß die Aktivität der Serum-Cholinesterase abhängig ist von der Blutgruppe. Auch eine Altersabhängigkeit kann nicht von der Hand gewiesen werden. Eine Untersuchung derartiger Abhängigkeiten soll im nun folgenden vorgenommen werden.

5.2. Abhängigkeit vom Geschlecht

Als erstes soll hier eine etwaige Abhängigkeit der Serum-ChE-Aktivität vom Geschlecht untersucht werden. Dazu unterteilen wir die Einzelergebnisse des Gesamtkollektivs in zwei Gruppen nach Frauen und Männern, um durch Vergleich etwa bestehende Unterschiede zu ermitteln. Hierbei soll nun zuerst interessieren, inwieweit die Ausgangsaktivität geschlechtsabhängig ist; die dazu erstellte Tabelle 3 ergibt folgendes Bild:

Tabelle 3: Grenz- und Mittelwerte der Ausgangsaktivität (AA) getrennt nach Geschlecht.

(♀ = 40, ♂ = 40, ges. = 80)

	Mittelwert	Standardabw.	Minimalwert	Maximalwert	Konfidenzbereich
♀	182,7	34,6	108,4	258,4	+ 11,1
♂	209,6	37,1	108,1	274,6	+ 11,9
ges.	196,2	38,1	108,1	274,6	+ 8,5

Wie zu ersehen ist, differenzieren die Mittelwerte der Ausgangsaktivitäten bei Frauen und Männern nicht unerheblich – der AA-Mittelwert bei Männern liegt knapp 15% über dem der Frauen. Bezogen auf die Gesamtheit ist der der Männer überdurchschnittlich, der Mittelwert der Frauen liegt unter dem Durchschnitt. Betrachtet man die Werteverteilung anhand von Histogramm 3

(Seite 49), so zeigt sich ein vermehrtes Auftreten männlicher AA-Werte im höheren Bereich. Dies läßt den Schluß zu, daß die Aktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase in unvergiftetem Zustand bei Männern im Durchschnitt größer ist als bei Frauen.

Aus der für das Gesamtkollektiv ermittelten Gesetzmäßigkeit, daß je größer die Ausgangsaktivität, desto größer auch die Restaktivität sei, sollte sich ableiten lassen, daß auch die Restaktivität der Männer - der höheren Ausgangsaktivität wegen - im Durchschnitt höhere RA-Werte annehmen muß, als die der Frauen. Eine Auswertung von Tabelle 4 (siehe unten) und Histogramm 4 (Seite 51) bestätigt dies.

Tabelle 4: Grenz- und Mittelwerte der Restaktivität (RA)
getrennt nach Geschlecht (in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$)
Konfidenzbereich $p = 0,05$
($\sigma = 40$, $\sigma' = 40$, ges. = 80)

	Mittel- wert	Standart- abw.	Minimal- wert	Maximal- wert	Konfidenz- bereich
σ	133,8	36,5	52,2	230,8	$\pm 11,7$
σ'	155,0	42,2	62,3	237,8	$\pm 13,5$
ges.	144,4	40,6	52,2	237,8	$\pm 9,0$

Der Durchschnittswert der weiblichen Serum-ChE-Restaktivität liegt somit um über 15% unter dem der Männer.

Der Vergleich der Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität (RA%) für beide Gruppen gibt zusammen mit dem Vergleich der Abnahme der Aktivität (Senkung) Aufschluß darüber, inwieweit das Serum eines Geschlechtes stärker oder schwächer als das des anderen mit DFP vergiftet werden kann. So ergeben sich - wie aus Tabelle und Histogramm 5 zu ersehen ist - für die Senkungsmittelwerte geringe Differenzen von etwa 5% bezogen auf den Gesamtmittelwert. Hierbei liegt der Wert der Männer-

gruppe über dem der Frauen.

Tabelle 5: Grenz- und Mittelwerte der Senkung (S)
getrennt nach Geschlecht (in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$)
Konfidenzbereich $p = 0,05$
($\sigma^0 = 40$, $\sigma^{\text{m}} = 40$, ges. = 80)

	Mittel- wert	Standart- abw.	Minimal- wert	Maximal- wert	Konfidenz- bereich
σ^0	48,9	20,3	20,1	119,5	$\pm 6,5$
σ^{m}	54,6	23,9	14,8	135,1	$\pm 7,7$
ges.	51,8	22,2	14,8	135,1	$\pm 4,9$

In absoluten Werten gemessen geht also die Serum-ChE-Aktivität nach DFP-Vergiftung bei Männern im Durchschnitt stärker zurück als bei Frauen.

Ob nun das Serum des Mannes oder der Frau durch DFP stärker vergiftet werden kann, muß anhand der Werte der Restaktivität ausgedrückt in Prozent der Ausgangsaktivität untersucht werden. Dieser RA%-Wert ist bekanntlich ein Maß für den Vergiftungsgrad der Serumcholinesterase. In Tabelle 6 werden nun die RA%-Werte von Männern und Frauen gegeneinandergestellt und es zeigt sich, daß zwischen den Werten der drei Gruppen nur verschwindend geringe, zu vernachlässigende Unterschiede bestehen. (Bei den Mittelwerten beträgt die Differenz 0,4%). Tabelle 6 ist auf der nächsten Seite wiedergegeben.

Tabelle 6: Grenz- und Mittelwerte der Restaktivität in
Prozent der Ausgangsaktivität (RA%)
getrennt nach Geschlecht
Konfidenzbereich $p = 0,05$
($\sigma^+ = 40$, $\sigma^- = 40$, ges. = 80)

	Mittel- wert	Standart- abw.	Minimal- wert	Maximal- wert	Konfidenz- bereich
σ^+	72,6	10,3	46,6	91,7	$\pm 3,3$
σ^-	73,2	11,7	39,8	91,6	$\pm 3,8$
ges.	72,9	11,0	39,8	91,7	$\pm 2,4$

Was die Verteilung der RA%-Werte anbelangt, so nimmt auch diese für beide Geschlechter nahezu den gleichen Verlauf (Histogramm 6). Im Durchschnitt ist also die Restaktivität bezogen auf die Ausgangsaktivität für die weibliche wie die männliche Serum-ChE gleich. Dies heißt nichts anderes, als daß die Vergiftbarkeit durch DFP beim weiblichen Serum nicht größer ist als beim männlichen - oder mit anderen Worten: Bei der Höhe des Vergiftungsgrades spielt das Geschlecht des Probanden keine Rolle.

Vergleicht man die Beziehungen von Restaktivität zu Ausgangsaktivität, Ausgangsaktivität zu Senkung und RA% zu Senkung getrennt nach Geschlechtern durch Bildung der Korrelationskoeffizienten, so ergibt sich folgendes Bild:

Tabelle 7: Korrelationskoeffizienten von AA/RA, AA/S
und RA%/S getrennt nach Geschlecht

	AA/RA	AA/S	RA%/S
σ^-	<u>0,8255</u>	0,0946	<u>-0,8778</u>
σ^+	<u>0,8388</u>	0,1941	<u>-0,8287</u>
ges.	<u>0,8426</u>	0,1740	<u>-0,8446</u>

(= signifikante Korrelation)

Wie schon für das Gesamtkollektiv gilt aufgrund der nahezu identischen Korrelationswerte für Mann und Frau, daß eine hohe Ausgangsaktivität auch eine hohe Restaktivität mit sich bringt, und eine hohe prozentuale Restaktivität einhergeht mit einer niedrigen Senkung. Senkung und Ausgangsaktivität stehen von der Höhe her sowohl bei Männern als auch bei Frauen in keinem Zusammenhang. Für Mann und Frau ist demzufolge kein unterschiedliches Verhalten hinsichtlich der Korrelationen der Serum-ChE-Aktivitäten festzustellen.

Resumierend läßt sich also für die Restaktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase bezogen auf ihre Abhängigkeit vom Geschlecht folgendes sagen: Zwar ist beim Mann die Restaktivität ebenso wie die Ausgangsaktivität im Durchschnitt höher als bei der Frau. Hinsichtlich des "Vergiftbarkeitsgrades" aber besteht zwischen männlichen und weiblichen Seren kein Unterschied. Höhere und niedrigere prozentuale Vergiftungswerte sind bei einer DFP-Vergiftung individuell bedingt, nicht aber abhängig vom Geschlecht.

5.3. Abhängigkeit von der Blutgruppe

Nächster Punkt der Untersuchungen soll nun eine mögliche Abhängigkeit der Serum-ChE-Aktivität beim Menschen von dessen Blutgruppe sein. Hierzu folgen wir dem Schema, welches schon bei den Betrachtungen zur Geschlechtsabhängigkeit der Restaktivität der Serumcholinesterase Anwendung fand; wir beginnen also mit einem Vergleich der Blutgruppen A, B, AB, und O bezüglich der Ausgangsaktivitätswerte unter Einbeziehung des Wertes für das Gesamtkollektiv (Tabelle 8). Hierbei - wie auch im weiteren Verlauf dieser Untersuchung - ist zu berücksichtigen, daß die Anzahl von Probanden pro Blutgruppe nicht gleich ist, sondern stark differiert. So umfaßt das Kollektiv der Blutgruppe A 30, das der Blutgruppe O 23, das der Blutgruppe B nur 11, und das der Blutgruppe AB sogar nur 3 Probanden! Daß sich die Zahl der Probanden aller Blutgruppen nicht auf die des Gesamtkollektivs

summieren läßt, liegt daran, daß von einigen Seren die Blutgruppe nicht bekannt war. Diese bleiben somit unberücksichtigt. In Tabelle 8 sind nun die Durchschnittswerte der Ausgangsaktivitäten der Blutgruppen wiedergegeben, die Verteilung der Ausgangsaktivitätswerte ist in Histogramm 7 dargestellt (Seite 53).

Tabelle 8: Grenz- und Mittelwerte der Ausgangsaktivität (AA)
getrennt nach Blutgruppenzugehörigkeit
(in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$)
Konfidenzbereich $p = 0,05$
(A = 30, B = 11, AB = 3, O = 23)

	Mittelwert	Standardabw.	Minimalwert	Maximalwert	Konfidenzbereich
A	199,2	35,5	114,8	258,8	$\pm 13,2$
B	188,4	25,4	156,8	224,3	$\pm 17,0$
AB	177,8	38,3	133,6	201,0	$\pm 95,2$
O	205,1	45,4	108,1	274,6	$\pm 19,7$
ges.	196,2	38,1	108,1	274,6	$\pm 8,4$

Vergleicht man die Ausgangsaktivitätsmittelwerte nach Tabelle 8 so zeigen sich hier Differenzen zwischen den einzelnen Blutgruppen. Die Folge dieser Wertunterschiede wäre eine Blutgruppenabhängigkeit der Ausgangsaktivität; ein Proband der Blutgruppe O ließe z.B. eine durchschnittlich um über 13% höhere Ausgangsaktivität erwarten, als einer der Blutgruppe AB. Daß dem aber nicht so sein muß, und daß insbesondere die Niedrigen der Durchschnittswerte zu falschen Schlüssen verleiten können, liegt am geringen Umfang der Kollektive B und - vor allem - AB. So ist augenfällig, daß je größer die Anzahl der Probanden pro Blutgruppe ist, desto näher reicht auch der betreffende AA-Mittelwert an den des Gesamtkollektivs heran.

Da eine Anzahl von drei Probanden pro Versuchsgruppe - noch dazu bei einer Versuchsanordnung, die wie die Warburg-Apparatur

der Gefahr von Messungsschwankungen ausgesetzt ist - als nicht repräsentativ gelten muß, sollen im weiteren Verlauf die Werte der AB-Gruppe zensuriert werden. Dies, auf die Mittelwerte der Ausgangsaktivität angewendet, bedeutet, daß sich alle zur Betrachtung herangezogenen Werte innerhalb einer Maximaldifferenz von 4,5% um den Mittelwert des Gesamtkollektivs bewegen.

Sind die Differenzen zwischen den einzelnen Blutgruppen hinsichtlich ihrer AA-Mittelwerte auch minimal, so scheint sich doch abzuzeichnen, daß aufgrund der Wertereihenfolge "O A B (AB)" die Vertreter der Blutgruppe O eine höhere Ausgangsaktivität der Serum-ChE besitzen als die der Blutgruppe A. Diese wiederum haben im Durchschnitt eine höhere als Probanden der Blutgruppe B. Die Träger der Blutgruppe AB scheinen die geringste Ausgangsaktivität aufzuweisen; für diese Gruppe läßt sich aber wie erwähnt, wegen der geringen Probandenzahl keine definitive Aussage treffen.

Bei den vorliegenden geringen Wertunterschieden ist es allerdings durchaus möglich, daß die Differenzen auf versuchsanordnungsbedingte Messungsschwankungen und die teilweise geringe Probandenzahl zurückzuführen sind. Dies würde bedeuten, daß die AA-Mittelwerte der Blutgruppen bei nur genügend großem Umfang aller Einzelkollektive gegen den Mittelwert des Gesamtkollektivs streben. Dies aber hieße, daß die Höhe der Ausgangsaktivität von der Blutgruppe unabhängig ist.

Der Vergleich der Cholinesterase-Aktivitäten nach Applikation des DFP und 30-minütiger Wirkungsdauer zeigt uns ein ähnliches Bild. Wenn man die RA-Mittelwerte der Blutgruppen gegeneinander stellt, so ergeben sich geringe Differenzen - vergleichbar den Ergebnissen bei der Ausgangsaktivität.

(siehe Tabelle 9)

Tabelle 9: Grenz- und Mittelwerte der Restaktivität (RA)
 getrennt nach Blutgruppenzugehörigkeit
 (in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$)
 Konfidenzbereich $p = 0,05$
 (A = 30, B = 11, AB = 3, O = 23, ges. = 80)

	Mittel- wert	Standart- abw.	Minimal- wert	Maximal- wert	Konfidenz- bereich
A	147,6	34,0	73,1	216,8	$\pm 12,7$
B	137,9	26,1	89,2	172,6	$\pm 17,5$
AB	135,8	60,2	69,7	183,5	($\pm 149,6$)
O	148,7	50,2	52,2	237,8	$\pm 21,8$
ges.	144,4	40,6	52,2	237,8	$\pm 9,0$

Die Verteilung der RA-Werte ist im Histogramm 8 dargestellt (Seite 53).

Zensoriert man wieder den Wert für die Blutgruppe AB, so erhält man Werte, die sich ebenfalls nur 4,5% vom RA-Mittelwert des Gesamtkollektivs unterscheiden. Eine in diesem geringen Rahmen vorgenommene Einstufung der Blutgruppen zeigt, daß für Probanden der Blutgruppe O im Durchschnitt eine geringfügig höhere Serum-ChE-Restaktivität zu erwarten ist, als für solche mit Blutgruppe A. Nächst niedriger liegen die Blutgruppen B und - mit gleichen Einschränkungen wie oben - AB.

Wie aber schon für die Ausgangsaktivität, so ist aus gleichen Gründen auch für die Restaktivität ein allen Blutgruppen gemeinsamer Mittelwert nicht auszuschließen. Eine Abhängigkeit der Höhe der Restaktivität von der Blutgruppe ist für diesen Fall zu verneinen.

Eine nähere Betrachtung der Senkungswerte bezüglich einer Blutgruppenabhängigkeit führt zu Ergebnissen, wie sie oben schon bei den Untersuchungen einer möglichen Abhängigkeit der Ausgangs- und der Restaktivität von den Blutgruppen zu erkennen waren.

Tabelle 10: Grenz- und Mittelwerte der Senkung (S)
getrennt nach Blutgruppenzugehörigkeit
(in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$)
Konfidenzbereich $p = 0,05$
(A = 30, B = 11, AB = 3, O = 23, ges. = 80)

	Mittel- wert	Standart- abw.	Minimal- wert	Maximal- wert	Konfidenz- bereich
A	51,7	22,6	20,8	119,5	$\pm 8,4$
B	52,6	30,1	14,8	135,1	$\pm 20,2$
AB	39,9	23,3	17,5	64,0	$\pm 57,9$
O	56,3	22,1	25,6	116,9	$\pm 9,6$
ges.	51,8	22,2	14,8	135,1	$\pm 4,9$

Der AB-Wert wird zensoriert; unter den verbleibenden Werten ergeben sich Differenzen zwischen 0,2% und 8,7% zum Senkungsmittelwert für das Gesamtkollektiv. Wieder besitzt die Blutgruppe O den höchsten Wert - diesmal aber, da es um die Abnahme der Aktivität geht, in negativer Hinsicht. Daß Gruppe B in der Höhe des Senkung-Mittelwertes vor A liegt, ist bei einer so geringen Differenz ($0,9 \mu\text{l CO}_2/30 \text{ min}$) und dem angewendeten Messverfahren ohne Aussagungskraft.

Da sich die Wertunterschiede in so kleinem Rahmen bewegen, kann wie schon im Vorhergegangenen, auch hier für die Senkung ein für alle Blutgruppen identischer Wert, und somit die Unabhängigkeit der Senkung von der Blutgruppe, nicht ausgeschlossen werden.

Die Aussage, ob es von der Zugehörigkeit zu einer bestimmten Blutgruppe abhängt, in welchem Maß die einzelne Serum-Cholinesterase durch DFP vergiftet wird, muß anhand der Werte der Restaktivität, ausgedrückt in Prozent der Ausgangsaktivität, getroffen werden. Eine solche Abhängigkeit wäre dann gegeben, wenn die aus der Summe aller RA%-Werte für die Blutgruppen gebildeten Mittelwerte deutliche Abweichungen voneinander zeigten.

Auch müßten in der graphischen Darstellung der RA%-Wert-Verteilung (Histogramm 10) signifikante Häufungen auftreten. Ein Blick auf Tabelle und Histogramm zeigt, daß dies nicht der Fall ist.

Tabelle 11: Grenz- und Mittelwerte der Restaktivität
in Prozent der Ausgangsaktivität (RA%)
getrennt nach Blutgruppenzugehörigkeit
Konfidenzbereich $p = 0,05$
(A = 30, B = 11, AB = 3, O = 23, ges. = 80)

	Mittelwert	Standardabw.	Minimalwert	Maximalwert	Konfidenzbereich
A	73,9	9,5	49,9	91,2	$\pm$ 3,6
B	72,7	12,6	39,8	91,6	$\pm$ 8,4
AB	74,7	20,2	52,2	91,3	$\pm$ 50,3
O	71,2	12,1	46,6	89,8	$\pm$ 5,2
ges.	72,9	11,0	39,8	91,7	$\pm$ 2,4

Wie zu ersehen ist, sind die RA%-Mittelwerte der einzelnen Blutgruppen annähernd gleich; Differenzen auf den Gesamtmittelwert ergeben sich nur in der Größenordnung von 0,3 bis 2,3%. Lediglich der AB-Wert fällt etwas aus dem Rahmen, was jedoch - wie oben schon gesehen - auf den zu geringen Umfang des zugehörigen Probandenkollektivs zurückzuführen sein dürfte.

Somit kann als erwiesen gelten, daß sich die Durchschnittswerte der Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität für die verschiedenen Blutgruppen voneinander nicht unterscheiden. Da dieser RA%-Wert der Gradmesser dafür ist, wie stark die Serum-Cholinesterase durch DFP vergiftet werden kann, folgt daraus, daß die "Vergiftbarkeit" des menschlichen Blutes bei DFP-Vergiftung von der Blutgruppe unabhängig ist.

Auch der Satz, daß eine höhere Ausgangsaktivität auch eine höhere Restaktivität mit sich bringt, scheint für die Blutgruppen seine Berechtigung zu haben. Mit Sicherheit läßt sich

dies allerdings nur für die Gruppen A und O konstatieren, da die Blutgruppen B und AB sich aufgrund der geringen Fallzahl der Bildung eines aussagekräftigen Korrelationskoeffizienten entziehen (Tab. 12).

Tabelle 12: Korrelationskoeffizienten von AA/RA, AA/S und RA%/S getrennt nach Blutgruppen

	AA/RA	AA/S	RA%/S
A	<u>0,7896</u>	<u>0,3824</u>	<u>-0,8747</u>
B	-	-	<u>-0,9730</u>
AB	-	-	-
O	<u>0,8981</u>	0,0151	<u>-0,7866</u>
ges.	<u>0,8426</u>	0,1740	<u>-0,8446</u>

(_____ = signifikante Korrelation)

Für die Blutgruppe A kann nach diesen Werten im Gegensatz zum Gesamtkollektiv und zu Blutgruppe O für die Beziehung der Höhe der Ausgangsaktivität zur Höhe der Senkung eine geringe Korrelation festgestellt werden. Danach ist bei Blutgruppe A die Senkung zu einem gewissen Grad (5%) von der Ausgangsaktivität abhängig. Das bedeutet aber nur, daß bei den meisten Werten der Gruppe A der Rückgang der Aktivität umso größer ist, je höher die Ausgangsaktivität ist. Angesichts des niedrigen Korrelationsgrades und der geringen Fallzahl muß man hier aber auch eine zufallsbedingte Übereinstimmung des Werteverhaltens in Betracht ziehen.

Auch bei den Blutgruppen gilt für das Verhältnis RA%/S - soweit feststellbar -, daß die prozentuale Restaktivität in umgekehrtem Sinne von der Höhe der Senkung abhängt.

Für den Einfluß der Blutgruppe auf die Aktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase vor und nach einer Vergiftung mit DFP kann zusammenfassend festgestellt werden, daß nach den hier erzielten Werten für die einzelnen Blutgruppen im Durchschnitt unterschiedlich hohe Ausgangsaktivitäten und Restakti-

vitäten zu erwarten sind. Es läßt sich aber andererseits auch nicht ausschließen, daß es hinsichtlich der Höhe dieser Werte von Blutgruppe zu Blutgruppe keine Unterschiede gibt; zu dieser Annahme führende Gründe wurden oben dargelegt. Das Erstellen einer Reihenfolge der Blutgruppen bezüglich der Höhe ihrer durchschnittlichen AA- und RA-Werte soll deshalb hier auch unterbleiben. Mit Sicherheit läßt sich aber sagen, daß es beim Grad der DFP-Vergiftung der Serum-ChE zwischen den einzelnen Blutgruppen keine Unterschiede gibt; es ist für das Ausmaß der Vergiftung also ohne Bedeutung welcher der Blutgruppen der Spender des Serums angehört.

5.4. Abhängigkeit vom Alter

Der folgende Teil der Untersuchung soll dazu dienen, darüber Aufschluß zu erlangen, ob und inwieweit das Alter eines Probanden Einfluß auf das Geschehen des DFP-Abbaus im menschlichen Serum nimmt. Hierzu wird als erstes untersucht, ob die Aktivität der unvergifteten Serum-ChE vom Alter des jeweiligen Probanden abhängt; die Verteilung der einzelnen AA-Werte bezüglich des Alters des zugehörigen Probanden ist in Diagramm 1 (Seite 55) dargestellt.

Bei der Auswertung von Diagramm 1 zeigt sich, daß für altersspezifischen Häufungen der Ausgangsaktivitätswerte keine Anzeichen vorhanden sind, was schon darauf schliessen lassen könnte, daß Ausgangsaktivität und Alter in keinem kausalen Zusammenhang stehen müssen. Klarheit hierüber verschafft aber erst die Bildung eines Korrelationskoeffizienten für die Beziehung Ausgangsaktivität/Alter. Für den Fall, daß zwischen dem Alter und der Ausgangsaktivität eine Abhängigkeit besteht, daß also der ältere Mensch (höhere Zahl der Lebensjahre) eine höhere oder niedrigere Ausgangsaktivität besitzt, wäre zu erwarten, daß der Korrelationskoeffizient 'r' gegen $\pm 1,0000$ streben würde. Im gegenteiligen Fall, dem nämlich, daß keine signifikante Korrelation AA/Alter besteht, müßte 'r' gegen Null gehen. Errechnet

man nun den Korrelationskoeffizienten aus den Ausgangsaktivitätswerten und dem Alter der Probanden in vollendeten Jahren (zur Zeit der Messung) so erhält man:

$$\text{Korrelationskoeffizient } r_{\text{Alter/AA}} = 0,002$$

Durch diesen äußerst niedrigen Korrelationsgrad bestätigt sich der aus Diagramm 1 gewonnene Eindruck, daß zwischen der Höhe der Ausgangsaktivität und den Lebensjahren kein Zusammenhang besteht. Die Aktivität der menschlichen Serum-ChE ist also im unvergifteten Stadium vom Alter unabhängig.

Für die Serum-Cholinesterase-Aktivität nach der DFP-Vergiftung gilt gleiches. Hier zeigen Diagramm 2 (Seite 55) und der ähnliche niedrige

$$\text{Korrelationskoeffizient } r_{\text{Alter/RA}} = 0,0620$$

daß auch für die Restaktivität keine Abhängigkeit vom Alter besteht.

Ein entsprechendes Bild bieten auch die Diagramme 3+4 und die Korrelationswerte der Senkung und der Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität.

$$\text{Korrelationskoeffizient } r_{\text{Alter/S}} = 0,0019$$

$$\text{Korrelationskoeffizient } r_{\text{Alter/RA\%}} = 0,0297$$

$$p = 0,05$$

Der starken Annäherung der Koeffizienten an Null ist zu entnehmen, daß keinerlei Korrelation besteht. Das aber bedeutet, daß sowohl der Rückgang der Aktivität bei DFP-Vergiftung als auch der Vergiftungsgrad altersunabhängig sind.

Das Alter eines Menschen steht also in keinem Zusammenhang mit Wirkungsweise und Abbau des DFP im menschlichen Serum.

6. Diskussion

Inhalt dieser Arbeit war eine Untersuchung des Verhaltens der menschlichen Serum-Cholinesterase nach Vergiftung mit DFP in geringer Konzentration. Besonderes Augenmerk sollte dabei auf etwaige Zusammenhänge zwischen der Restaktivität der Serum-ChE und dem Geschlecht, dem Alter, sowie der Blutgruppe der Probanden gelegt werden.

Zunächst ergab sich aufgrund der experimentell erzielten Werte, daß die Serum-Cholinesterase für jedes Serum und jeden Probanden eine andere (Ausgangs-) Aktivität besitzt. Ebenso verhält es sich mit der Restaktivität nach einer Vergiftung mit DFP; auch diese ist von Serum zu Serum verschieden. Allerdings fand sich, daß die Ausgangs- und die Restaktivität zueinander in Beziehung stehen, nämlich derart, daß eine hohe Ausgangsaktivität auch eine hohe Aktivität nach DFP-Vergiftung mit sich bringt und umgekehrt.

Der Vergiftungsgrad war unter den angewendeten gleichen Bedingungen für jedes der Seren ein anderer. Eine hohe Ausgangsaktivität bedeutet also nicht unbedingt, daß dieses Serum in geringerem Maße vergiftet wird, als eines mit niedrigem AA-Wert. Es ist danach anzunehmen, daß es sich bei einer etwa existierenden "DFP-ase" nicht um ein Enzym mit für jedes Serum gleichem Wirkungsgrad handelt. Auch die Vermutung, es handele sich beim Abbau des DFP um einen Titrationsvorgang, konnte nicht bestätigt werden, da die dazu notwendigerweise für jedes Serum gleichen Senkungswerte sich nicht einstellten. Diese Senkungswerte waren im Gegenteil stärkeren Schwankungen unterworfen und zeigten darüberhinaus keinerlei Korrelation mit der betreffenden Ausgangsaktivität. So ist zu vermuten, daß beim DFP-Abbau im menschlichen Serum mehrere spezifische oder unspezifische "DFP-asen" zumindest in das Geschehen eingreifen. Hierbei ist nicht auszuschließen, daß ein gewisser Teil der applizierten DFP-Menge auch einer Bindung an Eiweißstoffe im Blut, also einer Titration, unterliegt.

Was nun die Abhängigkeit der Restaktivität der menschlichen

Serum-Cholinesterase von solchen spenderbezogenen Faktoren wie Geschlecht, Blutgruppe oder Alter betrifft, so ergab diese Untersuchung die im Folgenden angeführten Gesetzmäßigkeiten:

Wenn auch die Unterschiede in der Höhe der Ausgangs- und Restaktivitätswerte individuell bedingt sind, so ist es für die Serum-Cholinesterase-Aktivität doch nicht unerheblich zu welchem Geschlecht der betreffende Proband gehört. Im Durchschnitt lagen nämlich die Werte der Restaktivität der männlichen Seren, ebenso wie die der Ausgangsaktivität, über denen der weiblichen. Beim Vergiftungsgrad zeigte sich hingegen keine Abhängigkeit vom Geschlecht; Mann und Frau sind also durch DFP im Durchschnitt gleichermaßen 'vergiftbar'. Auch ergab sich aus den erzielten Werten kein Hinweis darauf, daß die Vorgänge bei DFP-Wirkung und -Abbau für Männer einen anderen Verlauf nehmen, als bei der Frau.

Für den Einzelnen ist es hinsichtlich des DFP-Wirkungsgrades auch nicht von Bedeutung, welcher Blutgruppe er angehört; für die Restaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität waren hier bei der Werteverteilung und den Durchschnittswerten keine Unterschiede festzustellen. Allerdings konnten aufgrund der ermittelten Zahlen geringe Unterschiede bei der durchschnittlichen Höhe der Ausgangs- und Restaktivitäten der einzelnen Blutgruppen ausgemacht werden. Inwieweit diese geringfügigen Differenzen aber Beleg für eine Blutgruppenabhängigkeit der Ausgangs- und der Restaktivität sind, sei dahingestellt - erweist sich doch die Fallzahl für zwei Versuchsgruppen als sehr klein und damit nicht repräsentativ. Ein für alle Blutgruppen gleicher AA- und RA-Durchschnittswert - und somit die Unabhängigkeit der Ausgangs- und der Restaktivität von der Blutgruppe - erscheint nicht nur möglich, sondern sogar wahrscheinlich.

Was die Abhängigkeit der Restaktivität vom Alter des betreffenden Probanden anbelangt, so kann eine solche, wie auch eine Abhängigkeit der Ausgangsaktivität und der Senkung von der Zahl der Lebensjahre, verneint werden. Die Restaktivität in

Prozent der Ausgangsaktivität ist bei der Serum-ChE des alten Menschen im Verhältnis nicht anders als bei der des jungen. Es besteht also keine Beziehung zwischen der Wirkung des DFP im menschlichen Organismus und dem Alter.

Abschließend wäre noch anzumerken, daß für einige Punkte dieser Untersuchung keine definitive Aussage gemacht werden konnte. Dies lag zum einen an der teilweise geringen Zahl der zur Verfügung stehenden Fälle - hier könnten weitere Untersuchungen mit hinreichend großen, spezifisch ausgewählten Kollektiven näheren Aufschluß bringen. Zum anderen beinhaltet diese Versuchsanordnung der Anti-ChE-Technik und die hierzu verwendete Warburg-Apparatur einige Fehlerquellen, die sich mitunter einer Kontrolle entziehen. Dies kann zu versuchsbedingten Wertschwankungen führen und sich letztendlich als störend bei Auswertung und Beurteilung erweisen. Eine Bestätigung der hier gewonnenen Ergebnisse und getroffenen Aussagen anhand konkurrierender Untersuchungsmethoden erscheint angesichts dessen als ratsam.

7. Zusammenfassung

DFP ist ein reines Syntheseprodukt und wirkt durch seine Anti-Cholinesterase-Eigenschaft und die daraus resultierende Ansammlung von Acetylcholin im menschlichen Organismus stark toxisch. Eine Verstoffwechselung von DFP kann in vivo auf zweierlei Art geschehen und zwar durch Bindung an körpereigenes Protein und durch enzymatische Hydrolyse mittels eines Enzyms 'DFP-ase', wobei letztere Reaktionsform im menschlichen Organismus wenn überhaupt, dann nur in geringem Umfang zum tragen kommt und keinesfalls allein für den DFP-Abbau verantwortlich ist.

Die nach einer Vergiftung mit DFP verbleibende Restaktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase geht mit nur genügend hoher DFP-Konzentration gegen Null. Bei Vergiftung mit DFP in geringer Konzentration aber bleibt die Restaktivität beurteilbar für etwaige Abhängigkeiten, die mit der Zugehörigkeit eines Serums zu einer bestimmten Blutgruppe in Zusammenhang stehen, oder die durch Geschlecht und Alter des Serumspenders bedingt sind.

Bei der hier vorliegenden Untersuchung der Restaktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase an Seren von 80 Probanden mittels der Warburg-Apparatur ergab sich, daß die Restaktivität - und in gleichem Maße auch die Aktivität der unvergifteten Serum-ChE - individuell verschieden groß ist. Eine hohe Ausgangsaktivität bringt im allgemeinen eine hohe Restaktivität mit sich. Auch der Grad der Cholinesterase-Vergiftung ist bei gleicher DFP-Konzentration von Serum zu Serum ein anderer.

Eine Abhängigkeit der Restaktivität der Serum-Cholinesterase vom Geschlecht des zugehörigen Spenders muß bejaht werden; beim Mann ist die Aktivität nach DFP-Vergiftung (ebenso wie die Ausgangsaktivität) im Durchschnitt höher als bei der Frau. Der Grad der Vergiftbarkeit dagegen ist nicht geschlechtsabhängig.

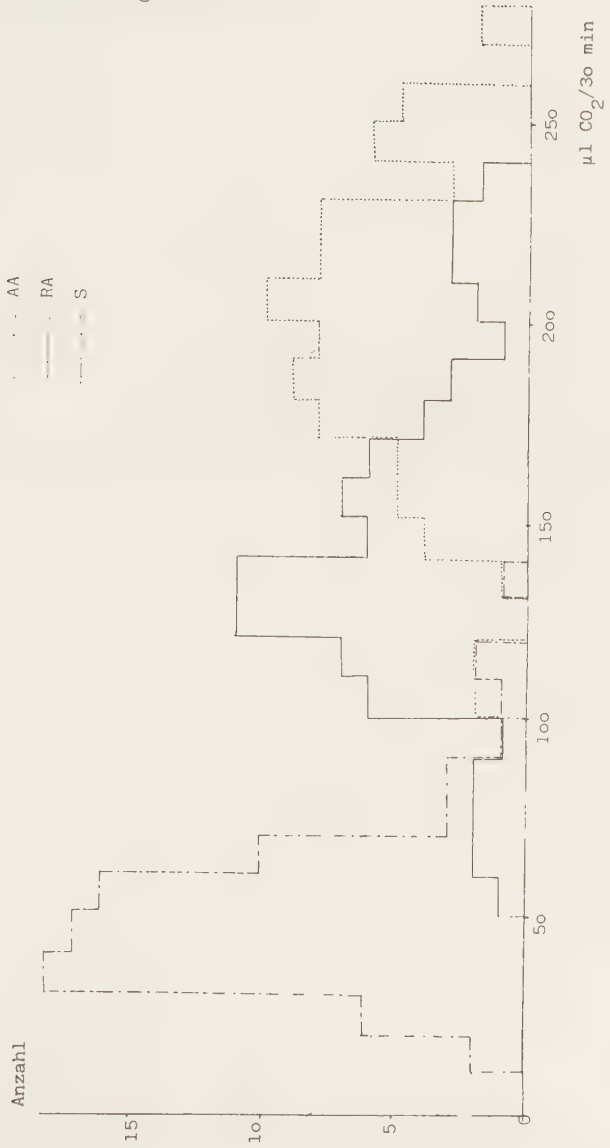
Für die einzelnen Blutgruppen wurden in dieser Untersuchung geringe Unterschiede betreffs der Höhe der durchschnittlichen Restaktivitäten ermittelt. Inwieweit aber diese Differenzen für Gesetzmäßigkeiten bezüglich der Abhängigkeit der Ausgangs- und Restaktivität von einer Blutgruppe repräsentativ sind, sei aufgrund der nicht genügend großen Fallzahl dargestellt.

Eine Abhängigkeit der Restaktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase nach DFP-Vergiftung vom Alter eines Probanden ist nicht gegeben; es besteht kein Zusammenhang zwischen der Wirkung des Diisopropylfluorophosphat im menschlichen Serum und dem Alter.

7. Histogramme und Diagramme

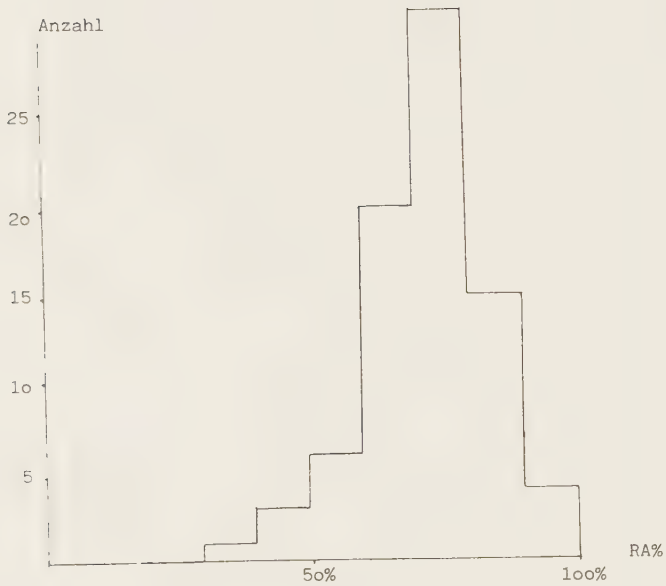
Histogramm 1

Histogramm 1: Ausgangsaktivitäts-, Restaktivitäts- und Senkungswerte
 der Serum-ChE für das Gesamtkollektiv ($c_{DFP} = 1,57 \cdot 10^{-9}$ molar)

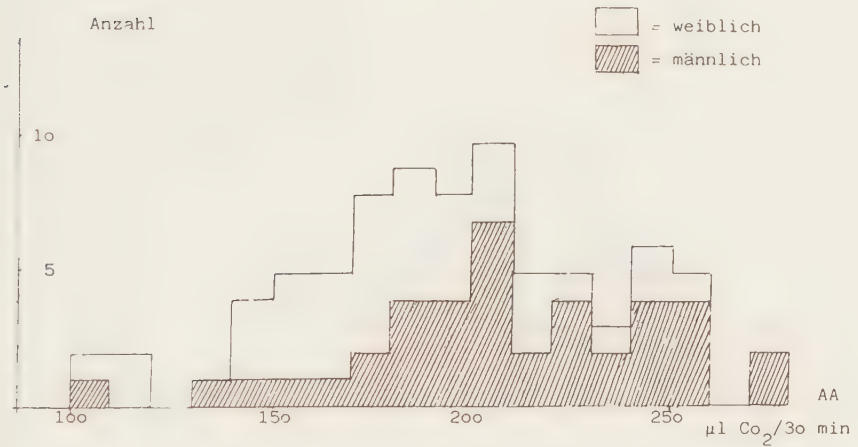


Histogramm 2: RA%-Werte für das Gesamtkollektiv

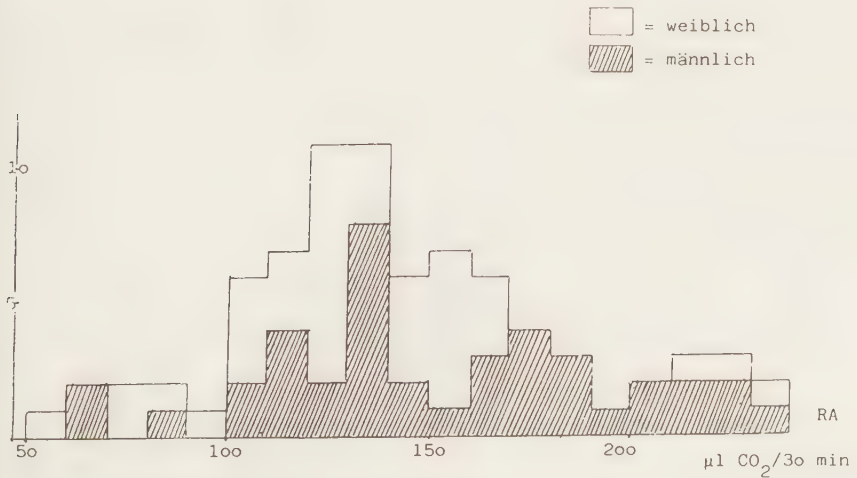
($c_{\text{DFP}} = 1,57 \times 10^{-9}$ molar)

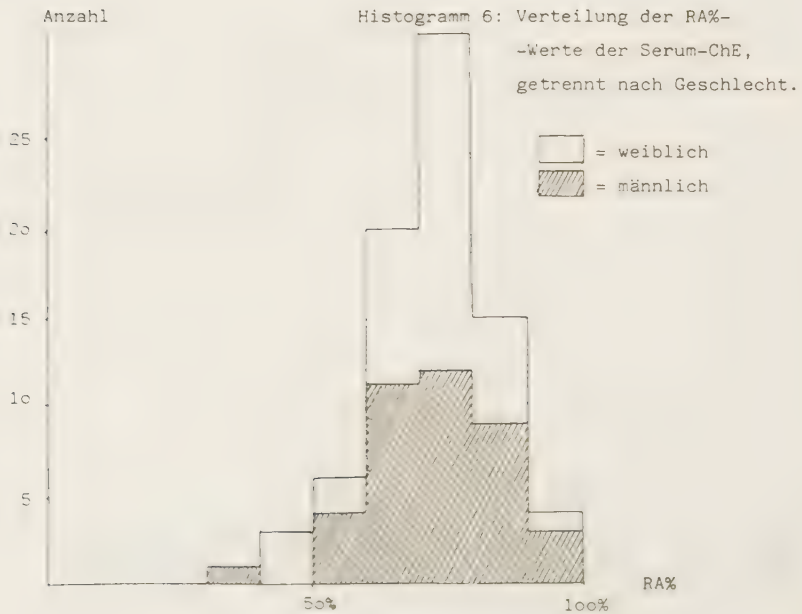
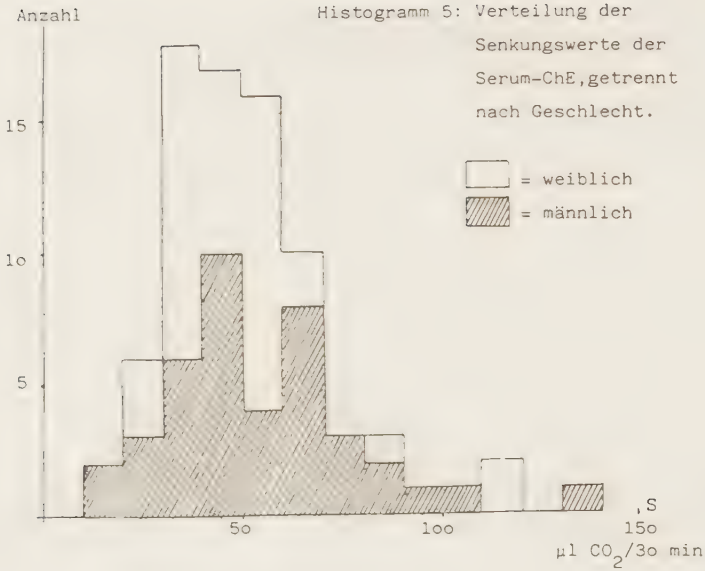


Histogramm 3: Verteilung der Ausgangsaktivitätswerte der Serum-ChE
getrennt nach Geschlecht

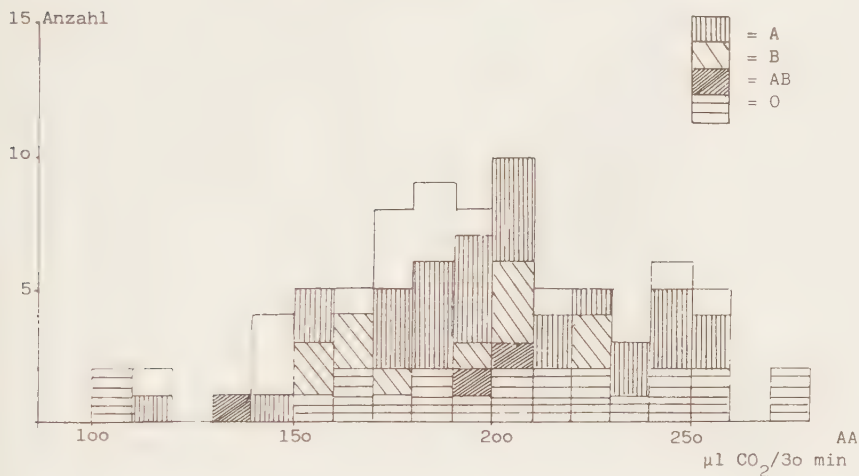


Histogramm 4: Verteilung der Restaktivitätswerte der Serum-ChE
getrennt nach Geschlecht

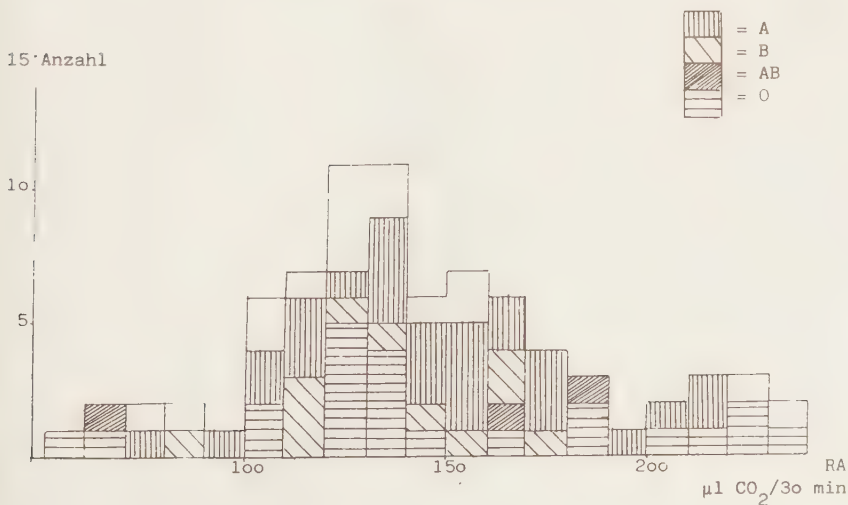




Histogramm 7: Verteilung der Ausgangsaktivitätswerte der Serum-ChE
getrennt nach Blutgruppen



Histogramm 8: Verteilung der Restaktivitätswerte der Serum-ChE
getrennt nach Blutgruppen



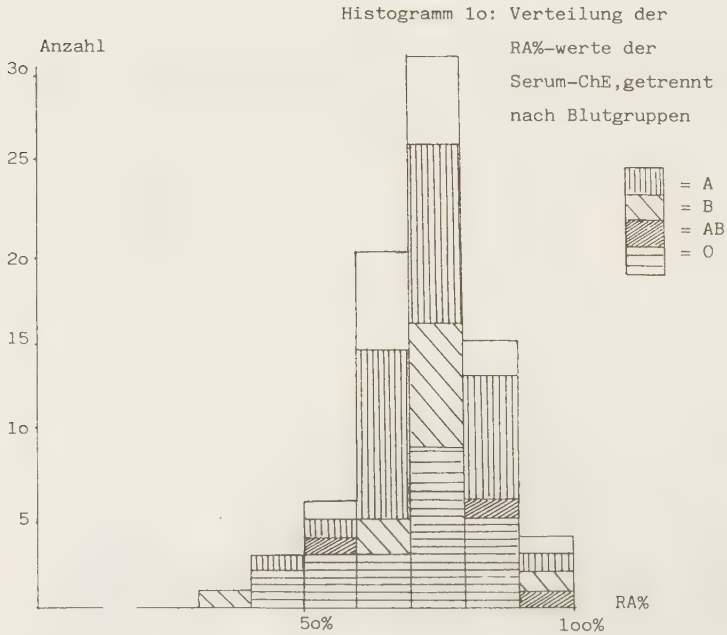
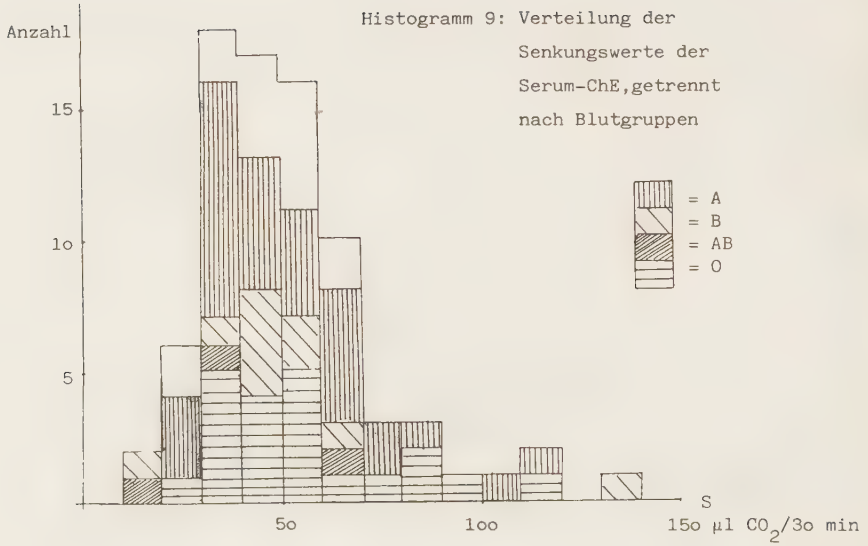


Diagramm 1: Korrelation zwischen Probandenalter und
der Ausgangsaktivität der Serum-ChE

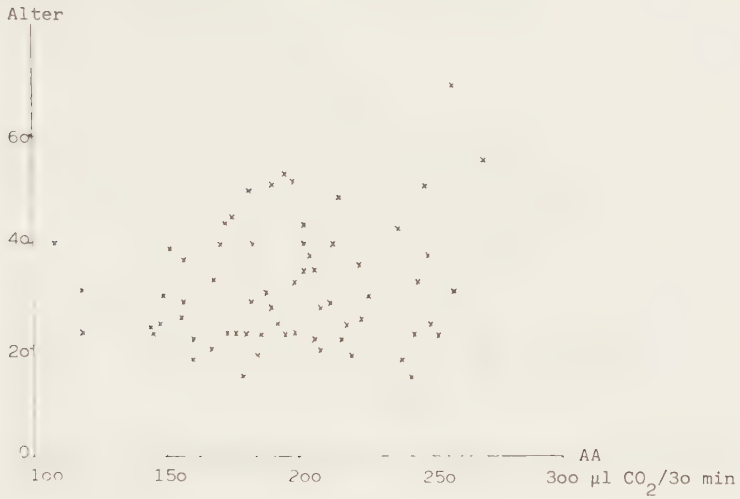


Diagramm 2: Korrelation zwischen Probandenalter und
der Restaktivität der Serum-ChE

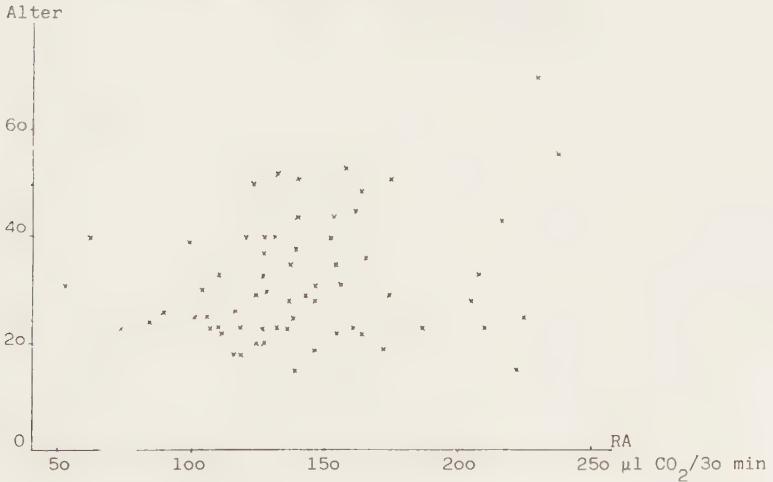


Diagramm 3: Korrelation zwischen Probandenalter und
der Senkung der Serum-ChE

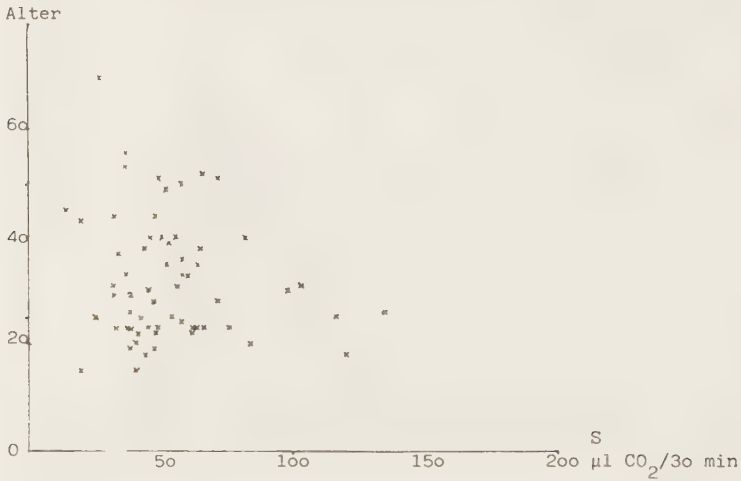
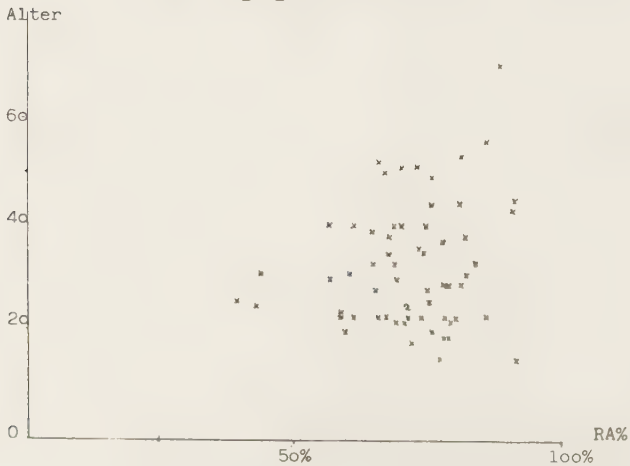


Diagramm 4: Korrelation zwischen Probandenalter und
den Werten der Restaktivität in Prozent
der Ausgangsaktivität (RA%).



8. Literaturverzeichnis

Aldrige, W.N.:

Serum Esterases. 1. Two types of esterase (A und B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination

Biochem. J. 53:110 (1953a)

Aldrige, W.N.:

Serum Esterases. 2. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E 600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera

Biochem. J. 53:117 (1953b)

Ammon, R.:

Die fermentative Spaltung des Acetylcholins
Pflügers Arch. ges. Physiol. 233:486 (1934)

Anderson, V. and Sölvén, S.:

Esterase Activity of Leucocyte Proteins and their Labelling with Radioactive Diisopropylfluorophosphate
Experientia 19:257 (1953)

Barr, R.D., Ross, S.A.G., McIntosh, J.A. and Williams, J.O.:

Physical influence on the in vitro binding of di-isopropylfluorophosphate ($DF^{32}P$) to human erythrocytes

Med. Lab. Technol. 32:41 (1975)

Bendtsen, K.:

Human Leucocyte Migration Inhibitory Factor (LIF) 1. Effect of Synthetic and Naturally Occurring Esterase and Protease Inhibitors

Scand. J. Immunol. 6:125 (1977)

Berends, F., Posthumus, C.H., Sluys, J.v.d. and Deyerkauf, F.A.

The chemical basis of the "ageing process"
of DFP-inhibited pseudocholinesterase
Biochem. Biophys. Acta 34:576 (1959)

Cohen, J.A. and Warringa, M.G.P.J.:

The fate of ^{32}P Labelled Diisopropylfluor-
phosphate in the Human Body and its Use as a
Labelling Agent in the Study of Turnover of
Blood Plasma and Red Cells
J. Clin. Invest. 32:459 (1954)

Ell, Werner:

Diisopropylfluorphosphat und die DFP-ase
(E.C.3.8.2.1.)
Erl.-Nbg. Univ.Med.Fak.Diss.(1979)

Friedberg, K.D. und Sakai, P.:

Spezifischer Nachweis von Vergiftungen
mit Alkylphosphaten (E 600, E 605, Systox)
im Blut und Hirngewebe mit Hilfe eines
fermentreaktivierenden Antidots (Pyridin-
Aldoxim-Methyljodid = PAM)
Dtsch. Z. ges. gericht. Med. 47:580 (1958)

Forth, W., Henschler, D. und Rummel, W.:

Allgemeine und Spezielle Pharmakologie
und Toxikologie: Seite 93ff; Bibliogra-
phisches Institut, Mannheim (1975)

Freedman, A.M., Willis, A. and Himwich, H.E.:

Correlation between Signs of Toxicity
and Cholinesterase Level of Brain and
Blood During Recovery from Di-isopropyl-
fluorophosphate (DFP) Poisoning
Am. J. Physiol. 157:80 (1949)

Geldmacher von Mallinckrodt, M., Rabast, U. und

Lindorf, H.H.:

Unterschiedliche Reaktion menschlicher
Serum-Cholinesterasen mit E 600
Arch. Toxikol. 25:226 (1969)

Gellman, M.A.:

The Use of Miotics for the Correction
of Hypermetropia and Accomodative Esotropia
Amer. J. Optom. 40:93 (1963)

Gellman, M.A.:

The Use of Drugs in the Diagnostics and
Treatment of Strabismus
Amer. J. Optom. 41:574 (1964)

Hansen, D., Schaum, E. und Wassermann, O.:

Organverteilung und Stoffwechsel von
Diisopropylfluoro-phosphat (DFP) beim
Meerschweinchen
Arch. Toxikol. 23:73 (1968a)

Hawkins, R.D. and Mendel, B.:

Selective Inhibition of Pseudo-Cholin-
esterase by Diisopropyl Fluorophosphonate
Brit. J. Pharmacol. 2:173 (1947)

Hjort, P.F., Paputchis, H. and Cheney, B.:

Labelling of Red Blood Cells with Radio-
active Diisopropylfluorophosphate (DF³²P)
Evidence for an Initial Release of Label
J. Lab. & Clin. Med. 55:416 (1960)

Horton, R.G., Koelle, G.B., Mc Namara, B.P. and Pratt, H.J.:

The Acute Toxicity of Diisopropyl Fluoro-
phosphate
J. Pharmacol. & Exper. Therap. 87:414 (1946)

Jahn, Thomas:

Vergleich der Restaktivität der menschlichen
Serum-Cholinesterase nach Vergiftung mit DFP
in drei unterschiedlichen Konzentrationen.
Erl.-Nbg. Univ.Med.Fak.Diss. (1981)

Jandorf, B.J. and Mc Namara, P.D.:

Fed. Proc. 8:210 (1949)
zit. n. Jandorf, B.J. and Mc Namara, P.D.
J. Pharmacol. & Exper. Therap. 98:77 (1950)

Jandorf, B.J. and Mc Namara, P.D.:

Distribution of Radiophosphorus in Rabbit
Tissues after Injektion of Phosphorus-
labelled Diisopropylfluorophosphate
J. Pharmacol. & Exper. Therap. 98:77 (1950)

Jansz, H.S., Brons, D. and Warringa, M.G.P.J.:

Chemical nature of the DFP-binding site
of Pseudocholinesterase
Biochem. Biophys. Acta 34:573 (1959)

Kendall, M. and Stuart, A.:

The advanced theory of statistics
Bd. 2: Inference and relationship
Charles Griffin & Company, London (1967)
2. Auflage, S. 224ff

Koelle, G.B. and Gilman, A.:

The Relationship between Cholinesterase
Inhibition and the Pharmacological Action
of Diisopropyl Fluorophosphate (DFP)
J. Pharmacol. & Exper. Therap. 87:421 (1946)

Kreyszig, E.:

Statistische Methoden und ihre Anwendungen
Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen (1973)
4. Auflage, S. 259ff

Kurth, D., Athens, J.W., Cronkite, E.P., Cartwright, G.E. and
Wintrobe, M.M.:

Leukokinetic Studies V. Uptake Tritiated
Diisopropylfluorophosphate by Leukocytes
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 107:422 (1961)

Lange, W. und von Krüger, G.:

Ester der Monofluorphosphorsäure
Berichte d. dtsh. chem. Ges. 65:1598 (1932)

Latki, O. und Erdmann, W.D.:

Hemmung und Reaktivierung von Cholinester-
asen nach Vergiftung mit Paraoxon und DFP
in vitro

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.

Pharmak. 240:514 (1961)

Leopold, J.H. and Comroe, J.H.jr.:

Effect of Diisopropyl Fluorophosphate
(DFP) in the Normal Eye

Arch. Ophth. 36:17 (1946)

Mackworth, J.P.:

unveröffentlichte Arbeit (1942)

zit. n. Modell, W. et al.

J. Pharmacol. & Exper. Therap. 87:400 (1946)

Mazur, A.:

An Enzym in Animal Tissues Capable of
Hydrolyzing the Phosphorus- Fluorine
Bond of Alkyl Fluorophosphates

J. Biol. Chem. 164:271 (1946)

Mazur, A. and Bodansky, O.:

The Mechanism of in Vitro and in Vivo
Inhibition of Cholinesterase Activity
by Diisopropyl Fluorophosphate

J. Biol. Chem. 163:261 (1946)

Nachmansohn, D., Rothenberg, M.A. and Feld, E.A.:

The in Vitro Reversibility of Cholin-
esterase Inhibition by Diisoprpyl
Fluorophosphate (DFP)

Arch. Biochem. 14:197 (1947)

Nachmansohn, D., Rothenberg, M.A. and Feld, E.A.:

Studies on Cholinesterase

V. Kinetics of the Enzym Inhibition

J. Biol. Chem. 174:247 (1948)

Neurath, A.R.:

A Component Splitting Diisopropylfluorophosphate in Sendai and Newcastle Disease Virus Preparations; its Possible Identity with Haemolysin

Acta virol. 9:25 (1965)

Nowotny, P., Preußner, S., Konrad, H. und Kieucke, H.:

Granulozytenkinetik mit radioaktivem Diisopropylfluorophosphat (DF^{32}P)

Folia haematol. 94:326 (1970)

Oosterbaan, R.A., Kunst, P., v. Rotterdam, J. and Cohen, J.A.:

The Reaction of Chymotrypsin and Diisopropylphosphorofluoridate

II. The Structure of Two DP-Substituted Peptides from Chymotrypsin-DP

Biochem. Biophys. Acta 27:556 (1958)

Quilliam, J.P.:

Di-Iso-Propylfluorophosphonate (DFP)

Its Pharmacology and its Therapeutic Uses in Glaucoma and Myasthenia Gravis

Post-Grad. M.J. 23:280 (1947)

Mounter, L.A., Floyd, C.S. and Chanutin, A.:

Dialkylfluorophosphatase of Kidney

I. Purification and Properties

J. Biol. Chem. 204:221 (1953b)

Mounter, L.A. and Chanutin, A.:

Dialkylfluorophosphatase of Kidney

III. Studies of Activation and Inhibition by Cofactors

J. Biol. Chem. 210:219 (1954)

Mounter, L.A., Baxter, R.F. and Chanutin, A.:

Dialkylfluorophosphatases of Microorganisms

J. Biol. Chem. 215:699 (1955a)

- Mounter, L.A., Dien, L.T.H. and Chanutin, A.:
The Distribution of Dialkylfluorophosphatases
in the Tissues of Various Species
J. Biol. Chem. 215:691 (1955b)
- Mounter, L.A. and Dien, L.T.H.:
Dialkylfluorophosphatase of Kidney
V. The Hydrolysis of Organophosphorus
Compounds
J. Biol. Chem. 219:685 (1956)
- Mounter, L.A., Alexander, H.C., Tuck, K.D. and Dien, L.T.H.:
The pH Dependence and Dissociation Constants
of Esterases and Proteases Treated With
Diisopropyl Fluorophosphate
J. Biol. Chem. 226:867 (1957)
- Murachi, T.:
A General Reaction of Diisopropylfluoro-
phosphate With Proteins Without Direct
Effect on Enzymic Activities
Biochem. Biophys. Acta 71:239 (1963)
- Mc Combie, H. and Sounders, B.C.:
Alkylfluorophosphates, preparation
and physiological properties
Nature 157:287 (1946)
- Moon, A.Y., Merconroff, J. and Hess, G.P.:
Charakterization of a Reversibly Formed
Enzym Complex in the Reaction of Chymo-
trypsin with Diisopropyl Fluorophosphate
J. Biol. Chem. 240:717 (1965)
- Mounter, L.A.:
Some Studies of Enzymatic Effects of
Rabbit Serum
J. Biol. Chem. 209:813 (1954)

Mounter, L.A.:

The Complex Nature of Dialkylfluorophosphatases of Hog and Rat Liver Kidney
J. Biol. Chem. 215:705 (1955)

Mounter, L.A.:

Metabolism of Organophosphorus Anticholinesterase Agents
in Handbuch der Experimentellen Pharmakologie Band 15:486, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, herausgegeben von Koelle, G.B. (1963)

Mounter, L.A. and Chanutin, A.:

Dialkylfluorophosphatase of Kidney
II. Studies of Activation and Inhibition by Metals

J. Biol. Chem. 204:837 (1953a)

Ramachandran, B.V.:

Catalytic Effect of Phosphate and Oximes on Non-enzymic Hydrolysis of Diisopropyl Phosphorofluoridate
Indian J. Biochem. Biophys. 8:112 (1971)

Rump, S., Galecka, E., Grudzinska, E., Jiozuk, I. and Rabsztyn T.:

New Trends in Experimental Therapie of Organophosphate Intoxications
Environ. Qual. Saf. 3:609 (1975)

Schrader, G.:

Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäureester
Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. (1963)
S. 105ff

Süllmann, E.:

Manometrische Methoden zur Untersuchung des
Gewebsstoffwechsels
Im Handbuch der Physiol.-und Patholog.-
Chemischen Analyse
Hgb. Land, K. und Lehnartz, E. Bd. VI-A
Springer Verlg. Berlin, Heidelberg, New York
(1964)

Silver, S.D.:

The Toxicity of Dimethyl-, Diethyl- and
Diisopropyl Fluorophosphate Vapors
J. Indust. Hyg. & Toxicol. 30:307 (1948)

Verbeke, R.:

Nouvelles Contribution à la Pharmacologie
du Di-isopropyl Fluorophosphonate (DFP)
Arch. int. pharmacodyn. 79:1 (1949)

Verbeke, R.:

Sur la Pharmacologie du Di-isopropyl-
fluorophosphonate (DFP)
Arch. int. pharmacodyn. 75:415 (1948)

Victor, N., Hörmann, A. und Eder, L.:

Statsys, Beschreibung und Anleitung mit
speziellen Hinweisen zur Benutzung der
Programme unter dem Betriebssystem BSV
der Siemens 4004/46
Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung
mbH München, Institut für Med. Datenverar-
beitung, GSF-Bericht MD 24, März 1973

Wählby, S., Engström, L., Bjare, U. and v. Hofstein, B.:

Reaction of an Extracellular Proteolytic
Enzyme from a Strain of Arthrobacter with
Diisoprpylphosphorfluoridate (DFP)
Acta Chem. Scand. 20:1993 (1966)

Wählby, S. and Engström, L.:

Studies on Strptomyces Griseus Protease
II. The Amino Acid Sequence around the
Reactive Serin Residue of DFP-Sensitive
Components with Esterase Activity
Biochem. Biophys. Acta 151:402 (1968)

Wählby, S.:

The Primary Structure at the DFP-Reacting
Site of a Proteolytic Enzym from a Strain
of Arthrobacter
Biochem. Biophys. Acta 151:409 (1968)

Wooton, J.F. and Hess, G.P.:

Evidence for the Involvmnt of a Tryptophan
Residue in the Reaction of Diisopropylphosphoro-
fluoridate with -Chymotrypsin
Nature 188:726 (1960)

Lebenslauf

30.09.1953	Geboren in Nürnberg Vater: Ferdinand, Andreas Sucker, Bauingenieur Mutter: Charlotte Sucker, geb. Drechsel
1960 - 1964	Besuch der Grundschulklassen 1 - 4 in Nürnberg
1964 - 1973	Besuch des mathematisch-naturwissenschaftlichen Martin-Behaim-Gymnasiums in Nürnberg
8.06.1973	Abitur
1.10.1973 - 30.09.1974	Studium der Rechtswissenschaften an der Friedrich-Alexander-Universität Erlg.-Nbg.
1.10.1974	Beginn des Studiums der Zahnheilkunde an der Friedrich-Alexander-Universität Erlg.-Nbg.
14.08.1975	Vorphysikum
9.08.1977	Physikum
18.11.1980	Staatsexamen
28.11.1980	Bestallung als Zahnarzt

Ralph Sucker

